UNIVERSITE DE LYON

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

490

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA TOXICITE DE QUELQUES IONS METALLIQUES ET DE LEUR CHELATE A L'ACIDE ETHYLENEDIAMINE TETRACETIQUE

THESE

pour le Doctorat de l'Université de LYON
Section de Pharmacie

présentée et soutenue publiquement
devant la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de LYON
le 15 Juin 1962

par

CLEMENT Jean-Marie
né le 8 Janvier 1934 à Châteaufort (Basses-Alpes)

TRAVAIL DE LA DIVISION DE CHIMIE ET PHARMACOLOGIE DU CENTRE DE RECHERCHES DU SERVICE DE SANTE DES ARMEES

UNIVERSITE DE LYON

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA TOXICITE DE QUELQUES IONS METALLIQUES ET DE LEUR CHELATE A L'ACIDE ETHYLENEDIAMINE TETRACETIQUE

THESE

pour le Doctorat de l'Université de LYON
Section de Pharmacie

présentée et soutenue publiquement
devant la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de LYON
le 15 Juin 1962

par

CLEMENT Jean-Marie
né le 8 Janvier 1934 à Châteaufort (Basses-Alpes)

TRAVAIL DE LA DIVISION DE CHIMIE ET PHARMACOLOGIE DU CENTRE DE RECHERCHES DU SERVICE DE SANTE DES ARMEES

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550013_0015

FACULTE MIXTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE DE LYON

PERSONNEL DE LA FACULTE

M. J. LEPINE : Doyen Honoraire
membre de l'Institut.

M. H. HERMANN : Doyen
Correspondant de l'Institut.

MM. M. LEVRAT : Assesseur
L. REVOL : Assesseur.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. COLLET, GUIART, PATEL LEPINE, TRILLAT, MOURIQUAND, MAZEL GARIN, GATE, MARTIN, GABRIELLE, SANTY.

PROFESSEURS

MM.	HERMANN	Physiologie.
	CIBERT	Clinique Urologique.
	PONTHUS (détaché à Beyrouth)	Physique biologique.
	DECHAUME	Clinique Neuro-Psychiatrique et hygiène mentale.
	ROCHET	Thérapeutique chirurgicale et Chirurgie opératoire.
	CHAMBON	Chimie organique et toxicologie.
	WERTHEIMER	Clinique chirurgicale B.
	PAUPERT-RAVAULT	Clinique médicale B.
	FROMENT	Clinique et prophylaxie cardio-vasculaires.
	CROIZAT	Clinique médicale C.
	ENSELME	Chimie biologique et médicale.
	MALLET -GUY	Clinique chirurgicale A.
	GUILLEMINET	Clinique de chirurgie orthopédique et de chirurgie infantile.
	REVOL	Pharmacie galénique et matière médicale.
	POLLOSSON	Clinique gynécologique.
	PIGEAUD	Clinique obstétricale.
	BOURRET	Médecine du travail.
	LEVRAT	Clinique médicale A.
	SOHIER	Hygiène et action sanitaire et sociale.
	DUCLOS	Clinique stomatologique.
	BERNHEIM	Clinique médicale infantile et Hygiène du premier âge.
	JOURDAN	Biologie médicale et pharmacodynamie.
	NETIEN	Botanique et cryptogamie.
	BERTRAND	Clinique chirurgicale C.
	BADINAND	Chimie analytique pharmaceutique.
	DREVON	Pharmacie chimique et pharmacologie.
	ROCHE	Médecine légale et déontologie.
	COUDERT	Parasitologie et pathologie exotique.
	MOUNIER-KUHN	Clinique d'Oto-Rhino-Laryngologie et d'Audio-Phonologie.
	PAUFIQUE	Clinique ophtalmologique.

MM.	THIERS	Clinique de dermatologie, syphiligraphie et allergologie.
	BRUN	Clinique de pneumo-phtisiologie.
	CREYSSEL	Clinique traumatologique des membres.
	DARGENT	Cancérologie.
	GUICHARD	Anatomie pathologique.
	GIRARD Paul	Pathologie générale et expérimentale.
	LATARJET	Anatomie.
	PEYCELON	Pathologie chirurgicale.
	GIRARD Marcel	Thérapeutique.
	VACHON	Pathologie médicale.
	GALY	Physio-pathologie des voies respiratoires.
	KEHL	Histologie et embryologie.
	PAPILLON	Radiologie.
	JEUNE	Clinique des maladies infectieuses.
	GONIN	Hydrologie thérapeutique, climatologie et écologie sociale.
	MONNET	Bactériologie.
	BANSSILLON	Physiologie et pathologie obstétricales.

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

MM.	BERGER	Physique nucléaire appliquée à la médecine.
	DORCHE	Technologie pharmaceutique.
	CIER J. François	Physiologie.
	BERTOYE	Bactériologie.

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM.	ROMAN	Parasitologie.
	CHATONNET	Physiologie.
	CIER André	Pharmacie chimique et pharmacologie.
	PERROT	Chimie organique et toxicologie.

MAITRES DE CONFERENCES-AGREGES

Médecine.

MM.	FEROLDI	Anatomie pathologique.
	CREYSSEL Roger	Chimie biologique et médicale.
	DUROUX Emile	Anatomie.
	BRETTE René	Thérapeutique.
	DUMONT Louis	Histologie.
	THIVOLET Jean	Hygiène.
	GARIN Jean-Paul	Parasitologie.
	MORET Robert	Physique.
	BOUCHET Alain	Anatomie.
	TOMMASI Michel	Anatomie pathologique.
	RIFFAT Georges	Hygiène.
	JOUVET Michel	Pathologie expérimentale.
	FAVRE-GILLY Jean	Hématologie.

Pharmacie.

MM.	ODDOUX Lucien	Botanique et cryptogamie.
	MALLEIN René	Chimie analytique.
	GRAS Jean	Chimie biologique.
	PEYRIN Jean-Olivier	Physique.

AGREGES EN EXERCICE

MM.	GUINET Paul	Médecine générale
	PONT Maurice	"
	VIGNON Georges	"
	REVOL Louis	"
	PLAUCHU Marcel	"
	TRAEGER Jules	"
	MARION Pierre	Chirurgie générale.
	MICHAUD Pierre	"
	JAUBERT de BEAUJEU Michel	"
	SAUTOT Jean	"
	GUILLEMIN Georges	"
	BURTHIAULT René	Obstétrique.
	GIGNOUX Marcel	Oto-Rhino-Laryngologie.
	FRANCOIS René	Pédiatrie.
	FREIDEL Charles	Stomatologie.
	DEVIC Michel	Médecine générale.
	DESPIERRES Charles	"
	de MOURGUES Georges	Chirurgie générale.
	FRANCILLON Jacques	"
	SAUBIER Eugène	"
	COLOMB Daniel	Dermatologie.
	COLIN Marcel	Médecine légale.
	TOLOT François	Médecine du Travail.
	GUYOTAT Jean	Neuro-Psychiatrie.
	SCHOTT Bernard	"
	DUMONT Martial	Obstétrique.
	BONAMOUR Georges	Ophtalmologie.
	DURAND Louis	Urologie.
	GARDE Alexandre	Médecine générale.
	PERRIN André	"
	LARBRE François	"
	MORNEX René	"
	NORMAND Jean	"
	MARET Gilbert	Chirurgie générale.
	DESCOTES Jacques	"
	CHASSARD Jean-Louis	Electro-radiologie.
	ALLEGRE Georges	Neuro-chirurgie.
	HUGONNIER René	Ophtalmologie.
	FAYSSE Robert	Orthopédie.
	GAILLARD Jean	Oto-Rhino-Laryngologie.
	KAIB Jean-Claude	Pneumo-Phtisiologie.

EXAMINATEURS DE LA THESE :

MM. : B. DREVON
A. BADINAND
A. CIER
J. PERROT

A MES PARENTS

En témoignage de mon affection.

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur B. DREVON

Il nous a fait le très grand honneur d'accepter la présidence de notre Jury.

Qu'il nous permette de lui adresser ici, l'expression de notre profond respect et de notre reconnaissance.

AUX MEMBRES DE NOTRE JURY

Monsieur le Professeur A. BADINAND

Monsieur le Professeur L. PERROT

Nous sommes très heureux qu'ils aient accepté d'être nos Juges.

Nous les prions de bien vouloir trouver ici le témoignage de notre reconnaissance.

Monsieur le Professeur A. CIER

Il nous a accueilli avec bienveillance dans son laboratoire. Le séjour que nous y avons fait nous a été très profitable et nous y avons beaucoup appris.

Il nous a confié ce travail et nous a donné de grandes facilités pour l'accomplir. Il nous a prodigué ses conseils et son aide, nous consacrant beaucoup de temps.

En nous permettant de présenter cette thèse, il nous prouve sa confiance.

Nous ne saurions assez lui exprimer toute notre gratitude et notre respectueux attachement.

A Monsieur le Pharmacien Capitaine NOFRE

Nous avons souvent eu recours à ses conseils.

Il nous a fait bénéficier de ses vastes connaissances et nous a prodigué ses encouragements.

Nous tenons à l'en remercier et à l'assurer de notre reconnaissance.

A Monsieur le Médecin Commandant DEFAYOLLE

Sa compétence nous a été précieuse. Il nous a fourni des renseignements avec beaucoup d'amabilité.

Nous l'en remercions vivement.

A nos camarades du Laboratoire.

A NOS MAITRES DE LA FACULTE MIXTE

DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE

MARSEILLE.

GENERALITES

I N T R O D U C T I O N

Dans les leçons qu'il publia en I857, Claude BERNARD a déjà souligné combien il était difficile de définir la notion de poison et de préciser les cadres délimitant les substances toxiques et les médicaments. Plus récemment, LAUNOY (68) rappelait qu'il n'existe en définitive qu'une simple différence de degré entre une activité pharmacologique et une action toxique ; "c'est une question de posologie".

Encore que les phénomènes toxiques observés ne soient pas toujours en rapport avec des quantités pondérales de matière, "tout se résume à une question de dose" (R. FABRE) et la notion de toxicité est liée le plus souvent à celle de troubles organiques graves, provoqués par l'administration de quantités généralement faibles d'une substance.

Phénomène complexe, résultante de processus de caractères divers, d'atteintes fonctionnelles, tissulaires, cellulaires, une action toxique n'est que la traduction, souvent lointaine, des perturbations qui se développent au sein de l'organisme vivant, au niveau de cet équilibre fragile de réactions chimiques incessantes qui constitue le propre de la vie.

On conçoit ainsi que, même limitée à la toxicité générale aiguë, c'est-à-dire aux manifestations toxiques consécutives à l'administration d'une dose unique de la substance étudiée, la détermination de la toxicité soit une "mesure" particulièrement délicate ; il a été nécessaire de la codifier de façon arbitraire, malgré, ou, plus exactement, en raison de la diversité des réponses de l'organisme à une imprégnation toxique.

A l'observation de symptômes, souvent peu spécifiques, on a préféré le critère de la mortalité qui permet de définir des "doses létales", mais celles-ci dépendent encore de très nombreux facteurs, ce qui explique bien des discordances observées dans les résultats obtenus d'une expérimentation à l'autre.

Malgré ces réserves, les toxicologues ont de tout temps voulu comparer les toxicités de composés voisins et certains ont tenté de relier les manifestations toxiques observées aux propriétés physico-chimiques des substances étudiées (128) (130)(131).

Les premiers essais qui ont été effectués dans ce sens intéressent les composés minéraux, des sels métalliques en particulier ; mais ces travaux dont certains datent de plus d'un siècle ont conduit, pour la plupart, à des résultats si contradictoires qu'une seule conclusion devait se dégager de leur confrontation : "il n'existe aucune relation qui permette de rattacher les toxicités des sels métalliques à leurs propriétés physico-chimiques" (LAUNOY, 68).

On peut admettre cependant avec ROTHSTEIN(90) (108) que "c'est une fonction cellulaire perturbée qui se manifeste dans la réponse toxicologique observée chez l'animal".

.../...

D'après MATHEWS (76), la toxicité des ions métalliques serait liée à une dépolarisation de la membrane des cellules et par suite à une modification de la perméabilité cellulaire.

Cette théorie a été développée par de nombreux auteurs qui ont cru notamment pouvoir établir une relation entre la toxicité de quelques ions métalliques et leur potentiel d'électrode(JONES, 57 ; 58) ou leur électronégativité (DANIELLI, 30), SOMERS, 134 ; 135 ; 136).

On sait aussi que les ions métalliques interviennent souvent dans des réactions enzymatiques (*) et une telle éventualité amène maintenant les biochimistes à étudier systématiquement l'interaction de divers ions métalliques dans le fonctionnement d'un système enzymatique nouvellement isolé (78).

Si leur mode d'action n'est pas toujours connu, il est logique, semble-t-il, de rattacher l'activité catalytique, positive ou négative, des ions métalliques aux charges électriques qu'ils apportent et qui sont sans doute capables de modifier la structure moléculaire de l'enzyme dont la spécificité est liée à une architecture, elle-même adaptée au substrat intéressé. Cette hypothèse est étayée à l'heure actuelle par les recherches entreprises depuis une quinzaine d'années sur les agents chélateurs et leur activité biologique. Il est bien admis en effet que la chélation est un mécanisme assez général de la détoxication des ions métalliques dans l'organisme et certains composés organiques, l'éthylènediamine tétracétate de sodium (EDTA) notamment, ont été préconisés pour le traitement de maladies professionnelles, ou métaboliques, liées à l'introduction, ou à l'accumulation, dans l'organisme, d'un dérivé métallique, (12) (15) (16) (25) (50) (98) (144).

Une telle thérapeutique est encore relativement trop récente pour qu'on puisse prétendre en connaître valablement toutes les possibilités et les limites. Mais, déjà, à côté de succès remarquables, des échecs ont été enregistrés qu'il est bien souvent difficile d'expliquer et plus encore de prévoir (**).

N'y aurait-il alors aucune relation entre la nature d'un métal, les possibilités de former un chélate stable et les effets toxiques observés ? En d'autres termes, les conclusions de LAUNOY sont-elles toujours valables ?

C'est ce que nous avons tenté de préciser dans ce travail en comparant chez la souris, dans des conditions expérimentales aussi rigoureuses que possible, la toxicité de quelques ions métalliques chélatés ou non à l'EDTA.

Un tel mécanisme aurait une portée très générale et l'inhibition enzymatique a pu être considérée comme "le principe d'effets toxiques" (SCHORMULLER, 116).

* On sait, par exemple, que l'EDTA, employé avec succès dans le traitement du saturnisme, est sans effet dans l'intoxication mercurielle qui est valablement traitée par le dimercapto-propanol, inactif chez les saturniens.

CHAPITRE I - I -

LES IONS METALLIQUES ET LEURS CHELATES

Une propriété commune à de nombreuses molécules organiques est leur pouvoir de former avec les métaux des complexes internes que l'on désigne sous le nom de chélates (χηλη), nom qui leur a été attribué par MORGAN en I920.

Il y a maintenant une quinzaine d'années qu'un intérêt tout particulier s'est attaché à l'étude des chélates métalliques (*) et leur importance a crû avec celle des métallo-enzymes qui représentent des modèles naturels, biologiquement actifs de chélates métalliques.

I - I - I - STRUCTURE CHIMIQUE ET POUVOIR CHELATEUR, LES FACTEURS INFLUENCANT LA FORMATION ET LA STABILITE DES CHELATES.

Le groupe des chélates ne représente qu'une subdivision de la série des complexes étudiés pour la première fois par WERNER.

Tous ces composés sont caractérisés par la présence de liaisons de coordination, c'est-à-dire par le partage entre l'ion ou l'atome de métal et l'atome ou l'ion de la copule organique d'une paire d'électrons. Qu'il s'agisse d'une liaison de coordinance (X $\longrightarrow$ M) ou d'une covalence classique (X - M), il n'existe pas de différences essentielles dans les propriétés qui peuvent être attribuées à une telle liaison, et les modes de représentation qui sont rappelés plus haut permettent surtout de suivre les densités électroniques aux différents niveaux de la molécule.

Les atomes qui interviennent en général dans cette mise en commun d'un doublet électronique sont l'oxygène, l'azote et le soufre, et d'après VAN UITERT et FERNETIUS (I5I) on peut classer ainsi, par ordre d'affinité pour les ions métalliques, les principaux groupements qui ont des propriétés coordinantes marquées :

$-O^-$; $-NH_2$; -N=N- ; $N\leqslant$; $-COO^-$; -O- ; C=O

énolate amine azo noyau azoté carboxylate éther carbonyl

Quand deux groupements de liaison sont présents dans la même molécule, il se forme un chélate, c'est-à-dire un hétérocycle comprenant l'atome de métal. A priori, il ne devrait donc pas exister de différences fondamentales entre chélates et complexes ; cependant certaines structures de chélates renforcent considérablement la stabilité des liaisons de coordination et rendent compte des propriétés particulières des métaux chélatés.

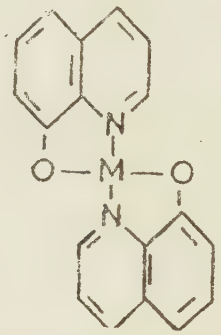
---

* Les Biological Abstracts ont ouvert la première rubrique sur les chélates en I95I et le premier traité sur "la chimie des chélates métalliques" de MARTELL et CALVIN a paru en I952 (74).

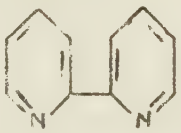
La formation de chélates stables implique un certain nombre de conditions que nous allons rappeler succintement, pour les plus importantes (I25).

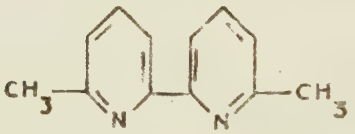
I - 1 - 1 - 1 - Structure chimique de l'agent chélateur, nature et nombre des cycles.

Les cycles les plus stables sont ceux formés de 5 chaînons (y compris le métal) ou de 6 chaînons si ceux-ci comportent 2 doubles liaisons. Il en résulte que la position respective, dans la molécule, des groupements donneurs d'électrons conditionne dans une large mesure les propriétés chélatantes : des 7 hydroxyquinoléines isomères, seule l'oxine ou 8-hydroxyquinoléine est douée d'une telle activité et conduit à des complexes du type suivant avec des ions métalliques bivalents :



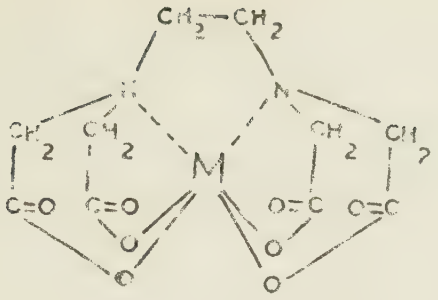
Par ailleurs, il faut noter que si des effets de résonance tendent à augmenter la stabilité d'un chélate, des encombrements stériques peuvent empêcher sa formation : ainsi, contrairement à l'α,α'-dipyridyle, le 2, 2'-diméthyl α,α' -dipyridyle n'est pas un chélateur du fer bivalent, bien que la substitution des deux groupements méthyles en 2,2' ait augmenté la basicité des azotes nucléaires.





α,α' - dipyridyle 2,2' - diméthyl, α,α'-dipyridyle

Si le chélateur ne contient que 2 groupements donneurs d'électrons le chélate ne forme qu'un seul hétérocycle et est dit "bidenté" ; s'il en contient 3, deux hétérocycles peuvent se former à condition que les orientations spatiales le permettent et le chélate est dit "tridenté". Enfin, il est classique d'observer des chélates polydentés qui sont parmi les plus stables ; les porphyrines (tétradentées) en sont un exemple naturel, les chélates formés par l'EDTA ont la possibilité d'être "hexadentés" grâce aux 6 groupements donneurs d'électrons que contient la molécule (figure 1).



I - Chélate hexadenté à l'EDTA

Des agents chélateurs à 7, 8 et 9 groupements sont connus, mais des dimères ou des polymères tendent à se former de préférence à un grand nombre de cycles dans la même molécule (chélates 2:1 ou 3:1). Au delà de 6 groupements donneurs d'électrons, la stabilité du chélate n'augmente pas, en général, avec leur nombre.

On peut expliquer que la présence de plusieurs cycles dans une même molécule puisse renforcer la stabilité du chélate en tenant compte des possibilités de coordination que présentent les ions métalliques. Limité à 2 pour le mercure et l'argent, à 4 pour le magnésium et le cuivre, l'indice de coordination de la plupart des métaux est égal à 6 et peut atteindre 8 pour quelques cations très positifs, tels le zirconium (IV) et le molybdène (VI).

En solution aqueuse, la tendance que présente un ion métallique à se coordonner se trouve plus ou moins satisfaite par sa solvatation, mais dès un pH voisin de la neutralité, de nombreux cations tendent à s'hydrolyser, le plus souvent en hydroxo-polymères complexes ; c'est l'olation (PFEIFFER, 100, 101) :

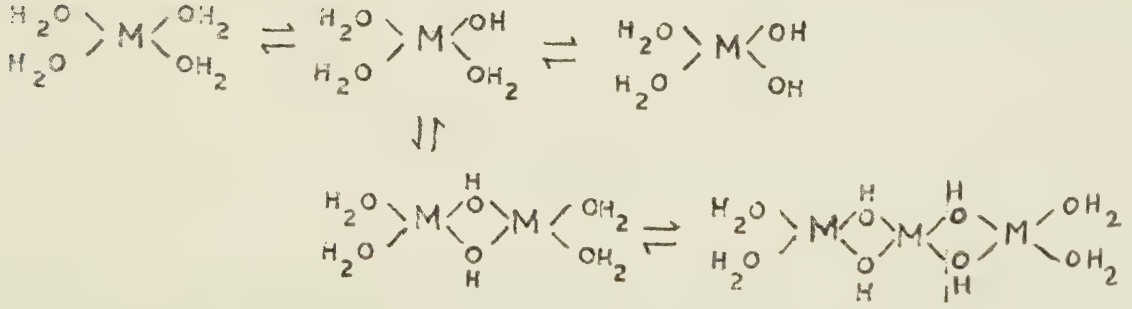


Fig . 2 - Processus de l'olation d'un ion métallique *

La formation d'un chélate partiel conduit encore à des systèmes polynucléaires, à des hydroxochélates, capables de s'hydrolyser si le pH est élevé :

---

* On désigne par "ol" les ponts OH pour les distinguer des groupements hydroxyles.

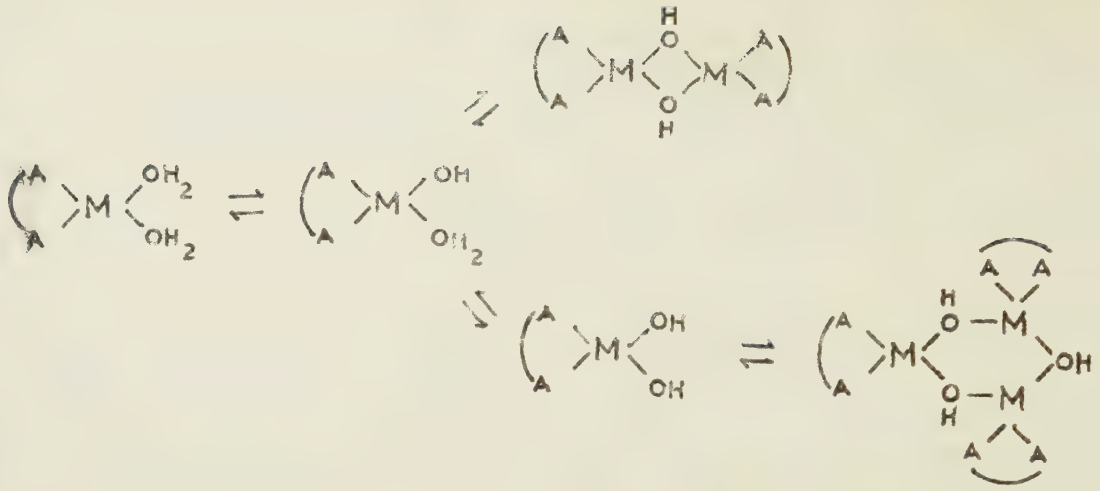


Fig. 3 - Processus de l'olation d'un chélate -

Les chélates les plus stables sont ceux dans lesquels l'agent séquestrant possède un nombre de groupements au moins égal à l'indice de coordination du métal. Avec ses 6 groupements donneurs, l'EDTA permet une chélation complète de la plupart des métaux.

I - 1 - 1 - 2 - Nature de l'ion métallique :

Pour un grand nombre d'agents chélateurs, la stabilité des chélates varie régulièrement avec la nature du métal chélaté.

Comme pour tout composé chimique, elle est déterminée par la constante de la réaction d'équilibre :

$$M^{+n} + A^{-m} \rightleftharpoons MA^{n-m}$$

$$K_{MA} = \frac{MA^{n-m}}{M^{+n} A^{-m}}$$

Les courbes des figures 4 et 5 empruntées à MARTELL (23), démontrent qu'il existe des corrélations entre la stabilité des complexes chélatés des métaux usuels et certaines de leurs propriétés physiques (électronégativité de l'ion métallique, charge ...).

Si le métal ne donne plus, sous la forme chélatée la plupart des réactions analytiques de l'ion libre, les chélates ne doivent pas cependant être considérés comme des composés chimiquement inertes. C'est ainsi que l'ion chélaté peut changer de valence en présence soit d'un réducteur, soit d'un agent oxydant selon une réaction d'oxydo-réduction comparable à celle que donnerait l'ion métallique libre. Dans ces conditions la réactivité du cation, définie par son potentiel d'oxydo-réduction se trouve modifiée : l'EDTA, en général, favorise l'état de valence le plus élevé ; pour

le système Fe (II) $\rightleftharpoons$ Fe (III) notamment, la chélation à l'EDTA fait passer le potentiel d'oxydo-réduction de + 0,78 v à + 0,12 v (157).

Si dans de nombreux cas, les stabilités des chélates métalliques s'échelonnent selon les séries établies pour les chélates du dibenzoylméthane (figures 4 et 5), elles sont aussi conditionnées éventuellement par la nature des groupements responsables de la chélation.

C'est ainsi qu'IRVING et WILLIAMS (55) admettent pour les cations bivalents de la première série de transition les affinités relatives suivantes :

Ca < Mn < Fe < Co < Ni < Cu < Zn < Pb

D'après d'autres travaux rapportés par ALBERT (2) on obtient avec des chélates du salicylaldéhyde la série :

Mg < Mn < Fe < Ca < Zn < Co < Ni < Cu < Pb.

On en est donc conduit à envisager l'influence d'un dernier facteur sur la stabilité des chélates métalliques, la nature des groupements donneurs d'électrons.

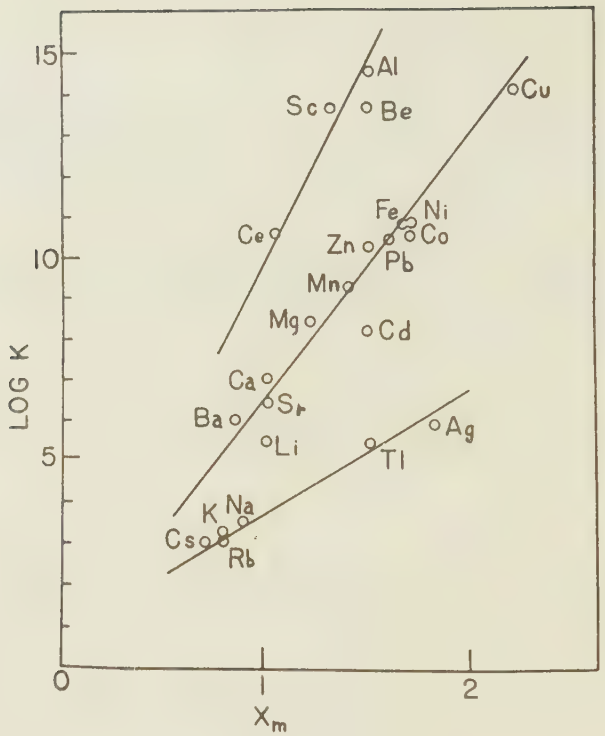


Figure 4 . Corrélation entre la stabilité des chélates du dibenzoylméthane (log K) et l'électronégativité des ions métalliques (Xm),(150) .

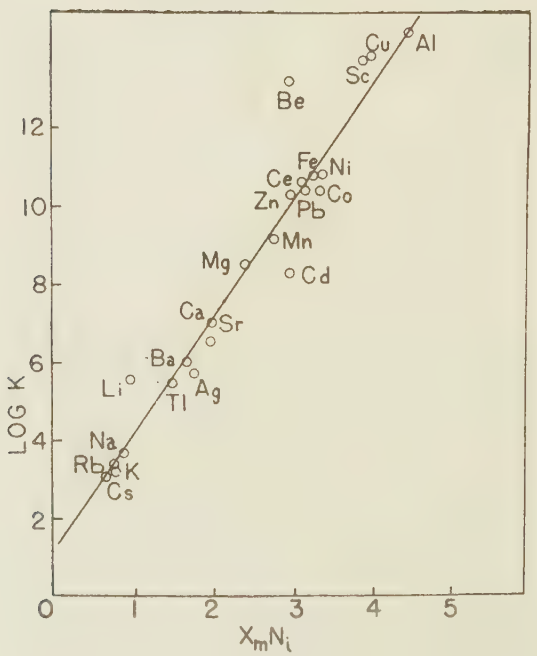


Figure 5 . Corrélation entre la stabilité des chélates du dibenzoylméthane et le produit de l'électronégativité des ions métalliques par leur charge ionique .

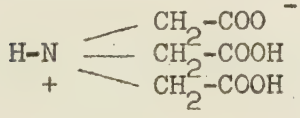
I - 1 - 1 - 3 - Nature des groupements donneurs d'électrons.

Nous avons déjà vu (151) que les groupements azotés basiques, aminés ou nucléaires, peuvent être considérés comme les plus actifs et pour plusieurs métaux de la série de transition, les composés polyaminés sont doués de propriétés chélatantes supérieures à celles d'acides di et triaminés polycarboxyliques, tels l'EDTA et l'acide diéthylènetriaminepentacétique (DTPA).

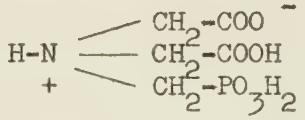
Le remplacement d'un groupement carboxylique par un hydroxyle alcoolique ou phénolique renforce aussi dans quelques cas l'activité chélatante. Il en est ainsi par exemple de l'acide N-hydroxyéthyl-éthylènediamine triacétique (HEDTA) dont le chélate ferrique est beaucoup plus stable, à pH alcalin, que celui de l'EDTA (22) (129).

La chélation au soufre, par l'intermédiaire d'un ou de plusieurs groupements thiols, est particulièrement intéressante dans le cas d'ions métalliques peu basiques, tels que le zinc et le cuivre ; si le chélate zinc-glycocolle a un pK de 5,4 seulement, ceux que forme ce métal avec la mercaptoéthylamine ou la cystéine ont un pK voisin de 9,9 (69). Il est d'ailleurs bien admis qu'un nombre important de chélateurs biologiques agissent par leurs groupements aminothiols.

Il est difficile cependant d'établir des règles générales dans ce domaine : dans le groupe des dérivés amino-polycarboxyliques, le remplacement de carboxyles par des chaînes méthylène-phosphoniques augmente l'activité chélatante comme en témoignent les données suivantes empruntées à SCHWARZENBACH (121).



Ca (II), pK = 6,41

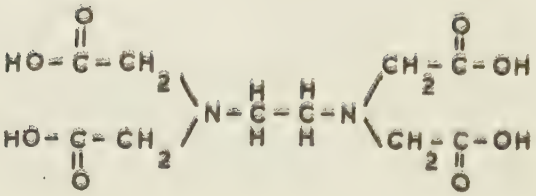


Ca (II), pK = 7,18

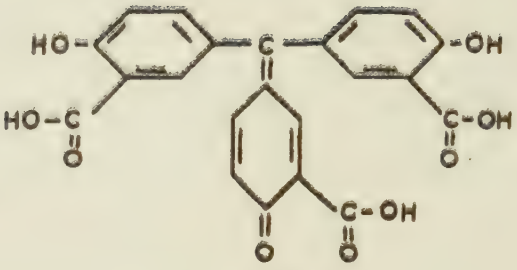
Par contre, la substitution d'un ou plusieurs chaînons acétiques de l'EDTA par des groupements méthylène-phosphoniques conduit à des agents chélateurs médiocres (155).

A la lumière de ces quelques exemples, on voit combien il est difficile de préjuger de l'activité d'un agent chélateur et d'obtenir un composé susceptible de réaliser, en toutes circonstances, une chélation efficace. Il existe en fait un grand nombre de cas particuliers et nous n'avons pas cru inutile de réunir dans un tableau quelques-uns parmi les plus actifs des chélateurs actuellement connus (Tableau I).

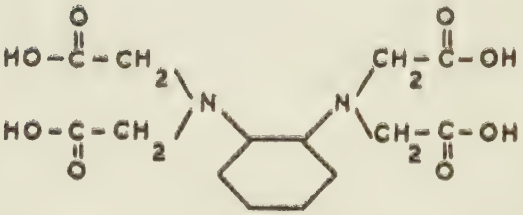
TABLEAU I



Acide éthylènediamine tétracétique (EDTA)

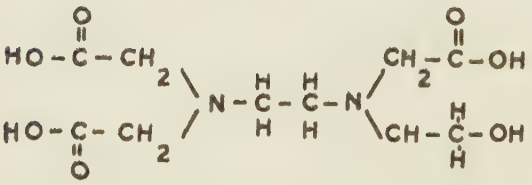


Aurine tricarboxylique

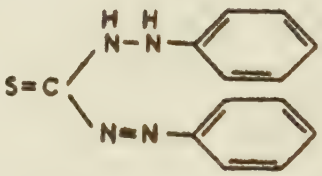


Acide 1,2-diaminocyclohexane-N,N'-tétracétique (CDTA)

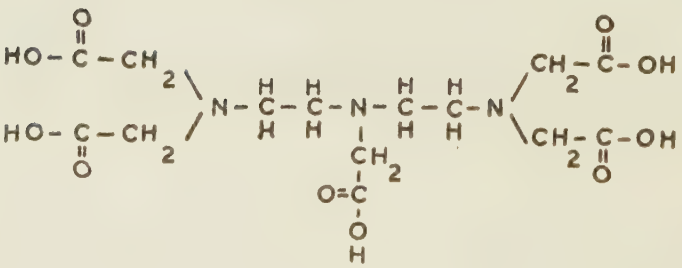
Orthophénanthroline



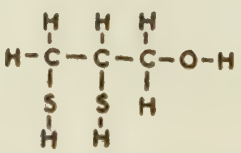
Acide N-hydroxyéthylènediamine triacétique (HEDTA)



Dithizone



Acide diéthylènetriamine pentacétique (DTPA)



2,3-dimercaptopropanol (BAL)

I - I - 2 - CHELATION ET TOXICITE DES IONS METALLIQUES

Nous avons déjà rappelé que l'inhibition enzymatique a pu être tenue comme un "principe d'effets toxiques " (SCHROMULLER, 116) ; dès lors, et en raison du nombre chaque jour accru des métallo-enzymes isolés, il est possible bien souvent d'envisager la chélation comme le mécanisme primaire d'une activité toxique ou pharmacologique.

Nous n'envisagerons pas ici ce dernier problème qui ne rentre pas dans le cadre de notre travail et qui a fait l'objet de mises au point récentes (24) (43) et, nous nous limiterons à l'étude de l'interaction des agents chélateurs dans les phénomènes toxiques dont peuvent être responsables des ions métalliques.

Si la chélation peut être considérée comme un mécanisme très général de la détoxication des ions métalliques, l'emploi des agents chélateurs dans le traitement des manifestations toxiques provoquées par des éléments métalliques accumulés ou introduits dans l'organisme est conditionné par de nombreux facteurs, en dehors de ceux qui rendent compte de la stabilité, in vitro, de la forme chélatée.

La chélation du calcium, omniprésent dans les tissus, ses répercussions sur la calcémie dont la chute entraîne l'apparition de crises tétaniques, impose l'utilisation d'un chélateur calcique qui garde encore son pouvoir de captation envers les ions toxiques et dont l'introduction ne modifie pas de façon brutale le taux de calcium circulant (*)

L'activité biologique d'un agent chélateur dépend encore de son métabolisme :

L'acide citrique qui est, in vitro, un excellent agent chélateur du plomb est totalement inefficace dans le traitement du saturnisme en raison de sa destruction rapide dans l'organisme. (45) (60).

Des acides o-hydroxy-carboxyliques, susceptibles de chélater énergiquement le béryllium, l'aurine tricarboxylique est de loin le plus actif dans le traitement des intoxications expérimentales au sulfate de béryllium. Les acides salicylique et sulfosalicylique conduisent, in vitro, à des chélates aussi stables mais ces deux dérivés sont trop rapidement métabolisés et éliminés par l'urine. L'aurine tricarboxylique au contraire s'élimine bien plus lentement et semble présenter une affinité particulière pour les tissus et les protéines au niveau desquels s'est déposé le béryllium injecté (156) (71) (120).

L'activité biologique d'un agent chélateur se traduit par une diminution importante de la demi-vie dans l'organisme de l'élément toxique qui se trouve éliminé, principalement dans les urines.

---

* L'emploi d'un chélateur calcique ne met cependant pas à l'abri de tout accident : le déplacement du calcium par d'autres ions peut déterminer une libération massive d'ions calcium susceptibles de provoquer des chocs que l'on évitera, en principe, en administrant le médicament en injections intraveineuses lentes.

Elle est liée, semble-t-il, à la formation de chélates solubles, plus rapidement mobilisés et excrétés. Il est remarquable en effet qu'après une injection unique d'un chélateur approprié à des sujets dont les tissus contiennent un métal étranger, radio-actif ou non, tel que le plutonium, le thorium ou le plomb, l'excrétion urinaire du métal demeure au-dessus de la normale pendant plusieurs jours, voire plusieurs semaines, alors que la quasi totalité de l'agent chélateur est éliminée en quelques heures (*). Un tel processus ne s'explique qu'en admettant la formation de chélates solubles, très stables, dont l'excrétion prolongée traduit la diffusion lente mais durable des tissus vers la circulation sanguine et l'urine (70).

Ce mode d'action des agents chélateurs peut être démontré expérimentalement par ultrafiltration des solutions dans l'eau et dans le sérum de divers sels métalliques chélatés ou non. Nous avons emprunté à HELLER et CATSCH (52) les résultats d'une telle expérimentation réalisée, in vitro avec le cérium I44 (tableau II). Le plutonium et le thorium ont conduit, in vivo, chez le rat, à des résultats comparables.

TABLEAU II

N°	E S S A I	n	Pourcentage de Ce ultrafiltrable
1	H_2O pH 7,3	2	0,59 ± 0,19
2	EDTA 6.10^{-6} moles	2	100,7 ± 0,35
3	Plasma seul	2	5,96 ± 1,65
4	Plasma EDTA	4	47,8 ± 3,64
5	Plasma DTPA	3	103,1 ± 4,00
6	Plasma EDTA in vitro (X)	1	42,5
7	Plasma DTPA in vitro (X)	2	99,5 ± 0,60

Influence de l'agent chélateur sur l'ultrafiltration dans le plasma sanguin de Ce^{144} sans entraîneur.

n = nombre d'essais répétés.

(X) - 3ml de plasma contenant Ce^{144} additionnés de 0,5 ml de solution molaire 10^{-3}.

Dans les intoxications par des métaux radio-actifs, la mobilisation du métal chélaté et son élimination rapide sont les processus indispensables, seuls capables d'assurer une détoxication efficace (152) (38) (19) (138) (133) (159) (45). Il peut ne pas en être toujours de même avec les éléments stables :

---

* Chez le rat, l'EDTA et le DTPA sont éliminés à 95-98 p. 100 dans les 6 heures qui suivent l'injection intra-péritonéale de ces deux chélateurs (42).

Si les auteurs s'accordent à reconnaître la parfaite tolérance clinique de l'hyperplombémie transitoire qui est de règle au début du traitement par l'EDTA d'une intoxication saturnine (110) (26)(115) (106), on peut concevoir cependant que la mobilisation du toxique, dans le cas de chélates moins stables que l'EDTA-Pb, soit responsable de manifestations pathologiques qui étaient limitées, avant chélation, par l'insolubilité de l'ion métallique.

Il faut noter aussi que des chélates métalliques, dont certains représentent des modèles d'enzymes, peuvent être doués de propriétés biologiques intrinsèques qui rendent compte de l'échec d'un traitement par les agents chélateurs.

La toxicité d'un ion métallique peut même, dans ces conditions, se trouver renforcée par la chélation et,ce phénomène dont notre travail expérimental fournit deux exemples indiscutables doit être rapporté à l'un ou à l'autre des mécanismes que nous venons d'évoquer.

CHAPITRE I - 2 -

LA CHELATION A L'ACIDE ETHYLENDIAMINE TETRACETIQUE

L'acide éthylènediamine tétracétique (EDTA) est de loin le plus "classique", dans tous les domaines, des agents chélateurs artificiels actuellement connus. C'est également le seul que nous ayons utilisé au cours de notre expérimentation et il ne nous a pas paru inutile de rappeler succinctement ses propriétés et le champ de ses applications.

Au point de vue chimique, nous avons déjà vu que la structure de ce dérivé comporte 6 groupements donneurs d'électrons : la chélation à l'EDTA de la plupart des métaux dont l'indice de coordination est égal à 6 conduit donc à des chélates I:I, hexadentés ; dans le cas des métaux bivalents (indice de coordination égal à 4) le chélate est tétradenté et l'agent chélateur peut être le sel disodique de l'EDTA.

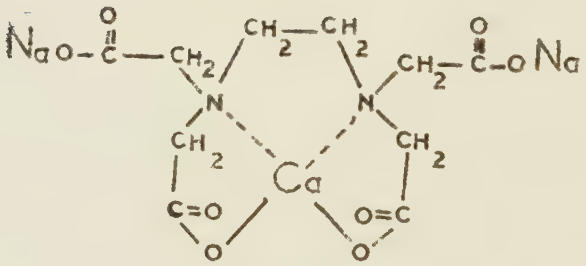


Fig. 6 - Sel disodique de l'EDTA calcique

Les chélates à l'EDTA sont particulièrement stables à un pH voisin de la neutralité ou même alcalin. Nous avons emprunté à CHABERECK et MARTELL (23) les valeurs des constantes de stabilité des chélates métalliques dont nous avons étudié la toxicité générale aiguë chez la souris (tableau III).

TABLEAU III

Ion métallique	Log K (20° C)
Al (III)	I6,I3
Ca (II)	I0,59
Cr (III)	24
Mn (II)	I4,04
Fe (II)	I4,33
Fe (III)	25,I
Co (II)	I6,3I
Ni (II)	I8,62
Cu (II)	I8,80
Zn (II)	I6,50
Cd (II)	I6,46
Hg (II)	2I,8
Pb (II)	I8,04

Constantes de stabilité des chélates de l'EDTA.

L'EDTA est un agent "séquestrant", c'est-à-dire que les chélates à l'EDTA sont en général très solubles dans l'eau.

On sait que la solubilité de ces "complexes internes" dépend du nombre et de la nature des groupements donneurs d'électrons présents dans la molécule de l'agent chélateur. A ce titre, les quatre groupements acétiques de l'EDTA sont appelés à jouer un rôle particulier : si l'ion métallique chélaté n'est pas lui-même ionisé, la plupart des chélates à l'EDTA possèdent encore des groupements carboxyliques libres qui rendent compte de leur grande solubilité dans l'eau (*).

---

* La valeur exacte de la solubilité des chélates à l'EDTA et leur taux d'hydratation à l'état solide ne sont connus que pour certains d'entre eux, notamment les chélates des métaux alcalino-terreux (3).

Dès 1945, SCHWARZENBACH (123) (124) a démontré les possibilités d'emploi en volumétrie des agents chélateurs et notamment des dérivés de l'acide amino-diacétique dont l'EDTA. La complexométrie était née et de très nombreuses publications ont trait aux applications des agents séquestrants, de l'EDTA en particulier, en chimie analytique grâce à l'emploi d'indicateurs colorés qui sont eux-mêmes des agents chélateurs et changent de teinte en présence de traces de métal sous sa forme ionisée (122).

Mais la chélation des ions métalliques se produit aussi bien in vivo qu'in vitro ; les applications thérapeutiques de l'EDTA en découlent, et plus particulièrement celles de son sel calcique le calcitétracémate disodique, dérivé extrêmement peu toxique, si ce n'est à de très fortes doses au niveau du parenchyme rénal (41) (17) (85), et qui semble par lui-même dépourvu de toute activité pharmacologique. Le traitement des intoxications saturnines reste actuellement encore l'application la plus courante du dérivé calcique de l'EDTA (106) mais son emploi, semble s'imposer aussi dans toutes les intoxications liées à une surcharge accidentelle de l'organisme en métaux tels que le chrome (73), (77), (34), le manganèse (107), (65), (96), (97), (141), (142), (47), (105), le cadmium (126), (87), (44), (27), (140), le zinc (18), (80), (99), le nickel (127), (82) ....., (149), (145). Les résultats sont moins probants lorsqu'il s'agit de traiter des affections métaboliques conduisant à des surcharges métalliques, telles que la maladie de Wilson (160), (7), (54), (102) ou les hémochromatoses (67), (66), (153), (49), (75). Dans ce dernier cas notamment l'EDTA calcique a surtout un intérêt diagnostique grâce à la sidérurie importante qu'il provoque (37) (62) (28).

Parmi les autres indications de l'EDTA il faut signaler le traitement des hypercholestérolémies (29), (117), et de l'athérosclérose (13) : l'agent chélateur agirait en bloquant les oligo-éléments nécessaires aux processus enzymatiques assurant la synthèse du cholestérol.

On peut aussi concevoir l'utilisation thérapeutique de métaux chélatés à l'EDTA qui, sous cette forme, ne présentent plus la toxicité de leurs sels ionisables. Les travaux poursuivis par PAULET sur le traitement de l'intoxication cyanée par les dérivés cobaltiques nous apportent un exemple particulièrement intéressant d'une telle application (91) (92) (93) (94). L'EDTA - cobalt ne possède aucun des effets toxiques des sels minéraux de cobalt, notamment sur la tension artérielle, mais se présente comme "un antidote de choix à l'égard des cyanures". Sous sa protection convenablement ajustée, il est possible d'injecter chez le chien des doses énormes de cyanures (plus de 40 fois la DL 100) sans voir apparaître de manifestations toxiques. L'EDTA-cobalt aurait encore un intérêt thérapeutique : d'après MURDOCK (84) et DUFRENOY (33) le chélate cobalteux a conservé les propriétés hématopoïétiques du cobalt tout en étant beaucoup moins toxique que les sels.

Cet exemple n'est pas unique et d'autres chélates métalliques peuvent être doués d'une activité physiologique qui leur est propre : des recherches entreprises depuis plusieurs années par la Division de Chimie et Pharmacologie du Centre de Recherches du Service de Santé des Armées ont permis de mettre en évidence les propriétés radiomimétiques et radiosensibilisantes, in vivo, de l'ion ferreux chélaté à l'EDTA (89).

Nous serons d'ailleurs amené au cours de la discussion de nos résultats expérimentaux à rappeler ces phénomènes pour tenter d'expliquer la toxicité anormalement élevée de certains chélates métalliques.

TRAVAIL PERSONNEL

CHAPITRE II - I -

REACTIFS ET TECHNIQUES UTILISES

II - I - I - REACTIFS

II - I - I - I - Les sels métalliques

Ils ont été utilisés le plus souvent sous forme de sulfate, excepté dans les cas où le sel correspondant est insoluble ou ne se trouve pas à l'état pur sous sa forme commerciale.

Les sels métalliques que nous avons utilisés sont les suivants : sulfate d'aluminium pur d'origine Prolabo *, $Al_2(SO_4)_3$, I8 H_2O, (P.M. 666,4I) ; chlorure de calcium R.P. (Prolabo), $Ca\,Cl_2$, 2 H_2O, (P.M. I47,03) ; sulfate de cadmium R.P. (Prolabo), 3 $Cd\,SO_4$, 8 H_2O, (P.M. 769,56) ; sesqui-chlorure de chrome (Prolabo), $Cr\,Cl_3$, 6 H_2O, (P.M. 266,48) ; sulfate de cobalt R.P. (Prolabo), $Co\,SO_4$, 7 H_2O, (P.M. 28I,I2) ; sulfate de cuivre R.P. (Prolabo), $Cu\,SO_4$, 5 H_2O, (P.M. 249,69) ; sulfate ferreux R.P. (Prolabo), $Fe\,SO_4$, 7 H_2O, (P.M. 278,03) ; sulfate ferrique R.P. (Prolabo), $Fe_2\,(SO_4)_3$, (P.M. 399,90) ; sulfate de manganèse R.P. (Prolabo), $Mn\,SO_4$, H_2O, (P.M. I69,0I) ; acétate de plomb (Prolabo), $Pb\,(CH_3\,COO)_2$, 3 H_2O (P.M. 379,35) ; sulfate de zinc R.P. (Prolabo), $Zn\,SO_4$, 7 H_2O, (P.M. 287,56).

Nous nous sommes assuré à l'aide de techniques analytiques classiques de la pureté et du titre des sels utilisés.

II - I - I - 2 - Les chélates

Notre expérimentation a porté exclusivement sur les chélates préparés à partir de l'acide éthylène-diamine tétracétique (chélate I : I).

L'acide éthylène-diamine tétracétique a été utilisé sous la forme de son sel disodique ou de son sel tétrasodique : acide éthylène-diamine tétracétique sel disodique (B.L.B.**), $Na_2\,H_{I4}\,C_{I0}\,N_2\,O_8$, $2H_2O$ (P.M. 372,I)*** acide éthylène-diamine tétracétique sel tétrasodique (B.L.B.) $Na_4\,H_{I2}\,C_{I0}\,N_2\,O_8$, (P.M. 380,20).

---

* Prolabo - 12, rue Pelée PARIS IIe -

** Laboratoires du Bois de Boulogne - 33, rue Voltaire, Puteaux (Seine).

*** Abréviations utilisées :

Acide éthylènediamine tétracétique sel disodique, $Na_2\,H_2\,y$ ou Na_2 EDTA,

Acide éthylènediamine tétracétique sel tétrasodique, $Na_4\,y$ ou Na_4

Les chélates métalliques des cations bivalents ont été préparés par dissolution dans l'eau de quantités équimoléculaires de sel métallique et de Na_4 EDTA, conformément au schéma réactionnel suivant :

$$Na_4\ Y + Me^{2+} \longrightarrow 2\ Na^+ + Na_2\ Me\ Y$$

Les chélates métalliques des cations trivalents ont été préparés par dissolution de quantités nécessaires de sel métallique et de Na_4 EDTA pour obéir à l'équation suivante :

$$Na_4\ Y + Me^{3+} \longrightarrow 3\ Na^+ + Na\ Me\ Y$$

Les chélates calcique, ferreux, et chromique ont nécessité des préparations particulières :

Le chélate calcique a été obtenu en solution aqueuse par action de Na_2 EDTA sur du carbonate de calcium (carbonate de calcium R.P., Prolabo, $Ca\ CO_3$ P.M. 100,09) conformément à la réaction :

$$Na_2\ H_2\ Y + Ca\ CO_3 \longrightarrow Na_2\ Ca\ Y + CO_2 + H_2O$$

Le chélate ferreux, très autoxydable, a dû être préparé sous atmosphère inerte.

La solution aqueuse de Na_4 EDTA étant désoxygénée par un barbotage d'azote, recouvrir la surface du liquide d'une couche d'huile de paraffine et placer le récipient sous une cloche à vide. Après avoir chassé l'oxygène restant par un vide poussé, remplir la cloche d'azote et ajouter rapidement le sulfate ferreux dont la dissolution s'effectue sous atmosphère inerte grâce à un brassage par agitation magnétique. La solution est alors conditionnée en ampoules scellées sous atmosphère d'azote. Ces conditions expérimentales permettent d'obtenir une solution stable de chélate ferreux qui doit demeurer incolore.

Le chélate chromique, difficile à préparer en solution concentrée, a pu être obtenu cependant de la façon suivante : ajouter successivement dans une solution aqueuse d'EDTA disodique du carbonate acide de sodium (quantité bimoléculaire) et le chlorure de chrome (quantité équimoléculaire par rapport à l'EDTA). La chélation s'effectuant lentement (5I), attendre 24 heures avant l'emploi de la solution.

II - I - I - 3 - L'animal

Notre expérimentation a été réalisée exclusivement sur des souris provenant toutes d'un même élevage *, ce qui nous a permis de travailler sur une population animale relativement homogène en tenant compte des quatre critères suivants :

- La souche : souris Swiss albinos,

- Le sexe : souris mâles,

- L'âge : animaux de 2 à 4 mois,

- Le poids : tous les animaux d'expérience ont un poids voisin de 20 ± 2 grammes.

Dès leur arrivée au Laboratoire les souris sont groupées par lots de dix dans des cages métalliques. Les cages maintenues dans un parfait état de propreté, sont placées dans une pièce à température constante (21°).

Tous les animaux reçoivent une alimentation équilibrée. **

Pour chaque groupe de 100 souris reçues du Centre d'Elevage, un lot de 10 animaux a été conservé comme témoin de façon à pouvoir éliminer de nos résultats les essais au cours desquels une mortalité "naturelle" se serait manifestée.

II - I - 2 - TECHNIQUES

II - I - 2 - I - L'injection.

Les solutions de chacun des produits ont été préparées à différentes concentrations, afin que, quelle que soit la dose expérimentée, le volume injecté demeure identique (0,40 ml / souris de 20 g) ; lorsque le poids de l'animal diffère de 20 g, le volume de liquide injecté est corrigé de 0,01 ml. pour 0,5 g de poids. Les troubles susceptibles d'apparaître à la suite de l'injection d'un trop grand volume de liquide sont ainsi évités.

La seringue utilisée est une seringue de précision (SOCOREX) d'une capacité de I ml, graduée en centièmes.

Les solutions sont administrées par voie intrapéritonéale, selon la technique décrite par DUMAS (35).

---

* Centre d'Elevage d'Animaux de Laboratoire - Ardenay (Sarthe)

** "Provende Ratigène" : Société de Chimie Organique et Biologique - Commentry (Allier).

II - I - 2 - 2 - Les critères de la toxicité.

Le critère de toxicité choisi est la dose létale 50 p. IOO au trentième jour ($DL_{50}/30$) qui est la dose d'un toxique qui, rapportée au kilogramme de l'animal, est susceptible de tuer 50 p. IOO des animaux en trente jours.

a - Dose létale 50 p. IOO (DL_{50})

La DL_{50} se détermine en confrontant les pourcentages de mortalité obtenus par administration de différentes doses de toxique à des groupes homogènes d'animaux.

On sait que cette détermination est fondée sur le fait que les pourcentages de mortalité se répartissent graphiquement, en fonction des doses, selon une courbe sigmoïdale (TREVAN, 146).

Le problème consiste à obtenir cette courbe de la façon la plus précise possible avec un nombre minime de résultats expérimentaux ce que des procédés graphiques (48) et des méthodes mathématiques (6) (32) (59) permettent de réaliser.

Les méthodes de GADDUM (48) et de BLISS (8 ; 9) présentent la particularité de transformer la courbe primitive de TREVAN en une droite par conversion des pourcentages de mortalité en "probits" *. On opère la transformation en augmentant de cinq unités les valeurs obtenues après détermination des pourcentages de fréquence. La droite est située mathématiquement ; les paramètres de son équation sont déterminés par le calcul. Ces méthodes tiennent compte du fait que tous les points expérimentaux n'ont pas la même valeur dans la détermination de la DL_{50}, ce qui s'exprime mathématiquement par une "mesure pondérée" de chaque pourcentage de mortalité.

Leur mise en oeuvre est longue et complexe. Les résultats diffèrent peu de ceux de méthodes d'application plus aisée, et il semble que leur emploi ne se justifierait que dans le cas où de nombreux essais portant sur un grand nombre d'animaux constitueraient un ensemble de résultats assez étendu pour que les bases statistiques sur lesquelles se fondent les calculs soient applicables sans restriction.

Pour nos déterminations nous avons retenu la technique graphique de MILLER et TAINTER (8I) qui présente les avantages d'une mise en oeuvre facile et d'une précision largement suffisante.

Nous avons utilisé le papier "log-probabilité" de BONET-MAURY (11) **

Les doses sont portées en abscisse sur une échelle logarithmique, les pourcentages de mortalité sont portés en ordonnée sur une échelle en probit.

La droite est construite directement en tenant compte du fait que les points correspondants à des pourcentages voisins de 50 ont une validité supérieure à celle des points extrêmes.

* Dans la transformation en "probits" les pourcentages de mortalité : 16 %, 50 % et 84 % correspondent aux probits 4 ; 5 et 6.

** JOUAN - PARIS.

b - Ecart type approché.

C'est la méthode de LITCHFIELD et FERTIG (72) qui a été retenue. Elle dérive d'une relation donnée par BLISS (8),

$$(SE)^2 = \frac{(5 - \bar{y})^2}{b^4 S\left[w\ (x - \bar{x})^2\right]} + \frac{I}{b^2 S\ (w)}$$

où y et x représentent respectivement les pourcentages de mortalité en probits et les doses exprimées sous forme de leur logarithme, (SE) l'écart type approché, b la pente de la droite, w le "poids" attribué par BLISS aux différents probits.

L'approximation proposée par LITCHFIELD et FERTIG consiste à négliger le premier terme du deuxième membre de l'équation, puisque pour des valeurs de y voisines de 5, $\bar{y}$ est aussi voisin de 5. La formule approchée s'écrit alors :

$$(SE)^2 = \frac{I}{b^2\ S\ (w)}$$

Dans cette expression LITCHFIELD et FERTIG proposent une nouvelle approximation :

S (w) représente la somme des "poids" des différents probits retenus pour le calcul, chacun d'eux étant un produit de la forme n x v où n est le nombre d'animaux employés pour déterminer le probit et v une expression qui dans l'intervalle compris entre les probits 4 et 6 a une valeur comprise entre 0,4386 et 0,6336. L'approximation consiste à prendre pour v la même valeur 0,5 dans l'intervalle compris entre les probits 4 et 6. Dans ces conditions n x v devient 0,5 n, S (W) devient 0,5 N',N'étant le nombre total d'animaux employés pour déterminer les taux de mortalité entre les probits 4 et 6, c'est-à-dire les pourcentages de mortalité I6 et 84.

La forme simplifié de $(SE)^2$ est :

$$(SE)^2 = \frac{I}{b^2\ 0{,}5\ N'}$$

ou en posant $s = \frac{I}{b}$

$$(SE)^2 = \frac{s^2}{0{,}5\ N'} = \frac{s^2}{\frac{N'}{2}}$$

soit :

$$SE = \frac{s}{\sqrt{N'/2}} = \frac{2\ s}{\sqrt{2\ N'}}$$

Dans cette expression s représente l'inverse de la pente de la droite.

Le détail de cette approximation nous montre les limites dans lesquelles elle doit être utilisée pour être valable : il ne faut tenir compte dans le calcul de N' que des animaux correspondant aux lots qui ont donné des taux de mortalité compris entre I6 et 84 %.

La pente de la droite b peut s'écrire :

$$b = \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1}$$

y_1 et y_2 étant deux ordonnées, x_1 et x_2 étant les abscisses correspondantes.

s s'écrit alors :

$$s = \frac{I}{b} = \frac{x_2 - x_1}{y_2 - y_1}$$

et 2 s :

$$2\,s = \frac{2\,(x_2 - x_1)}{y_2 - y_1}$$

Si l'on prend en probits :

$y_1 = 4$ (pourcentage de mortalité 16 p. I00)

$y_2 = 6$ (pourcentage de mortalité 84 p. I00)

Il en résulte : $y_2 - y_1 = 2$

et :

$$2\,s = \frac{2\,(x_2 - x_1)}{2} = x_2 - x_1$$

2 s est donc la différence entre les doses donnant un pourcentage de mortalité de 84 p. I00 (probit 6) et de I6 p. I00 (probit 4). Ces deux valeurs sont lues sur le graphique.

$DL_{50} \pm SE$ traduit le fait qu'il y a 68 p. I00 de chances pour que la véritable valeur de la DL_{50} soit comprise dans cet intervalle.

c - DL_{50} au trentième jour ($DL_{50}/30$)

Le terme de toxicité aiguë est habituellement opposé au terme de toxicité chronique, la première se déterminant après observation brève des effets d'une seule dose, la seconde après observation prolongée des effets de doses répétées.

En fait, les phénomènes toxiques consécutifs à l'administration d'une dose unique d'un produit, se manifestent à des temps très variables qui dépendent à la fois, de la nature du poison et de la dose expérimentée. L'intoxication peut être très rapide et s'avérer mortelle dans les 24 heures ou au contraire s'observer après un laps de temps plus ou moins long et ne provoquer la mort qu'au bout de plusieurs jours. Ces deux types de toxicité sont appelés toxicité immédiate et toxicité différée ou, d'après CAUJOLLE (20), "toxicité proximale et toxicité distale". Les toxicologues accordent semble-t-il, depuis quelques années, une importance particulière au facteur temps dans toutes les déterminations de toxicité générale aiguë.

Dans ces conditions il faut admettre que la DL_{50} déterminée classiquement après un délai de 24 à 48 heures ne traduit pas fidèlement la toxicité d'une substance; comme l'a noté VALETTE (148), il est alors "laissé de côté les caractères chronologiques de l'intoxication aiguë en sous-entendant que la mort des animaux devrait se produire dans un délai de 24 à 48 heures pour s'inscrire dans la série des résultats". Il est bien évident que tous les animaux qui sont tués par une même dose de toxique ne meurent pas simultanément et la valeur de la DL_{50} en 24 heures est tout à fait illusoire lorsqu'il s'agit de substances à échéance mortelle différée. On doit donc prolonger la durée des épreuves pour conférer à cette détermination une objectivité plus grande. CAUJOLLE (20) préconise de déterminer la DL_{50} au bout d'un temps suffisamment long et variable suivant le toxique, de manière à obtenir : "la valeur limite de la DL_{50}, c'est-à-dire la valeur qui ne diminuera plus même si le temps d'examen augmente à l'infini". Il appelle cette valeur "indice d'agressivité".

Nous avons fixé à nos essais une durée de 30 jours en présumant qu'elle devait être suffisante pour que se révèle une toxicité différée et parce que ce laps de temps a été utilisé dans d'autres cas, notamment pour l'étude toxicologique des radiations ionisantes.

CHAPITRE II - 2

R E S U L T A T S

Les résultats que nous avons obtenus portent sur les trois points suivants :

- valeurs des $DL_{50}/30$
- distribution de la mortalité
- variations pondérales.

II - 2 - I - valeurs des $DL_{50}/30$

Nous avons porté dans les figures 7 à 13 , les graphiques donnant les droites de régression, établies comme nous l'avons décrit dans le chapitre II - I, d'après les probits de mortalité en fonction des logarithmes de la dose et, nous avons juxtaposé les graphiques obtenus avec les ions et leurs chélates respectifs. Les doses sont exprimées en milli-atome-gramme de métal par kilogramme de poids de souris (m-at.g/kg) tant pour les sels métalliques que pour leur chélate, excepté évidemment pour l'EDTA sodique dont la valeur est donnée en millimole d'EDTA par kilogramme souris (m. mole/kg).

Nous avons jugé utile de rassembler les différentes valeurs des $DL_{50}/30$ que nous avons obtenues en deux tableaux, l'un pour les ions métalliques (tableau IV), l'autre pour leur chélate (tableau V). Les $DL_{50}/30$, étant exprimées en milli-atome-g de métal par kg ainsi qu'en mg de métal par kg de souris.

La $DL_{50}/30$ de l'EDTA sodique non mentionnée dans ces tableaux est de $0,80 \pm 0,04$ m. mole/kg ou encore $297,6 \pm 14,8$ mg/kg de Na_2 EDTA, 2 H_2O.

II - 2 - 2 - Distribution de la mortalité et variations pondérales.

II - 2 - 2 - I - Distribution de la mortalité.

La mortalité des animaux a été suivie journellement pour chaque lot, jusqu'au trentième jour. Nous avons pu ainsi établir la distribution statistique de la mortalité induite par chaque ion et son chélate. Afin de permettre une étude comparative, les résultats sont exprimés en pourcentage de mortalité (fréquences relatives) répartis par intervalles de 48 heures, et sont présentés sous la forme d'histogrammes (figures 14 à 27).

II - 2 - 2 - 2 - Variations pondérales.

Le poids moyen des souris survivantes a été évalué journellement à 0,I g près, Les variations pondérales sont exprimées sous forme de polygone de fréquence, sous l'histogramme correspondant de la distribution létale.

Il doit être souligné que pour établir la somme des valeurs pondérales journalières nous avons éliminé les lots extrêmes, ceux qui ont correspondu à des doses conduisant à une mortalité nulle ou totale.

TABLEAU IV

Nature de l'ion	Toxicités exprimées en m-at.g du métal par kg souris		Toxicités exprimées en mg du métal par kg souris	
	DL 50	± S E	DL 50	± S E
Al (III)	0,80	0,06	2I,6	I,6
Ca (II)	2,50	0,06	I00,2	2,4
Cr (III)	0,90	0,09	46,8	4,7
Mn (II)	0,80	0,06	43,9	3,3
Fe (II)	0,70	0,08	39,I	4,5
Fe (III)	0,42	0,0I	23,4	0,59
Co (II)	0,350	0,009	20,6	0,53
Ni (II)	0,I35	0,008	7,9	0,47
Cu (II)	0,045	0,003	2,86	0,I9
Zn (II)	0,I8	0,0I	II,8	0,65
Cd (II)	0,033	0,00I	3,7I	0,II
Hg (II)	0,0I95	0,0006	3,9I	0,I2
Pb (II)	0,37	0,0I	76,6	2,0

Valeurs des $DL_{50}/30$ des ions métalliques.

TABLEAU V

Nature du métal chélaté	Toxicités exprimées en m.at.g du métal par kg souris		Toxicités exprimées en mg du métal par kg souris	
	DL 50	± S E	DL 50	± S E
Al (III)	0,54	0,03	I4,56	0,8
Ca (II)	I4,3	0,I0	573,I	4,0
Cr (III)	5,6	0,20	29I,2	I0,4
Mn (II)	6,0	0,38	329,6	20,8
Fe (II)	0,72	0,045	40,2	2,5
Fe (III)	0,38	0,02	2I,2	I,I
Co (II)	3,5	0,2	206,2	II,7
Ni (II)	I,5	0,065	88,0	3,8
Cu (II)	0,033	0,003	2,09	0,I9
Zn (II)	I,30	0,06	84,9	3,9
Cd (II)	0,070	0,0025	7,8	0,28
Hg (II)	0,0I35	0,0008	2,70	0,I6
Pb (II)	3,I	0,07	642,3	I4,5

Valeurs des $DL_{50}/30$ des chélates métalliques.

DL 50 / 30 DES IONS METALLIQUES ET DE LEUR CHELATE

En ordonnée, les poucentages de mortalité (échelle probit)
En abcisse, la dose en m-at. g du métal par kg (échelle logarithmique)

Figure 7 .

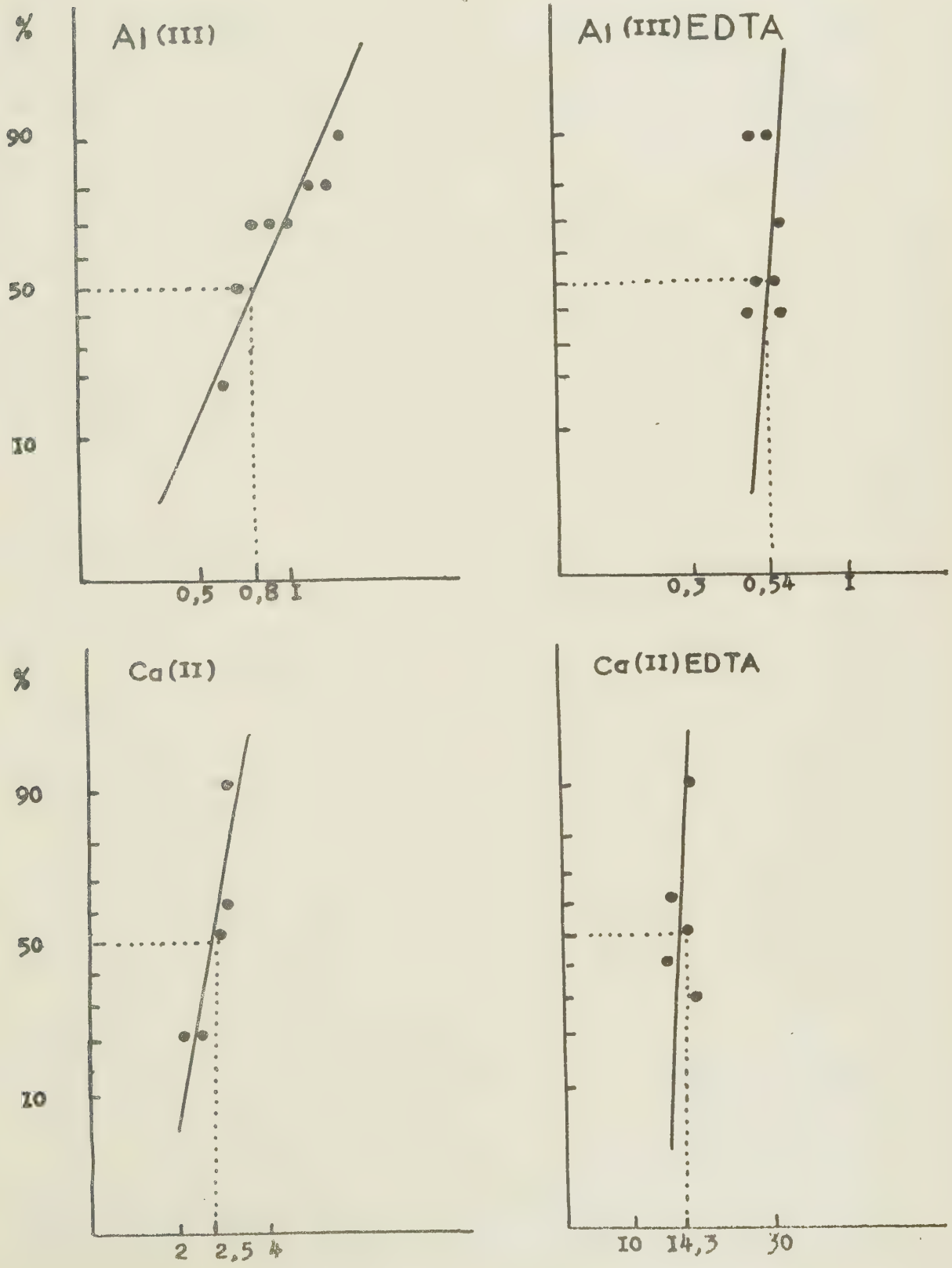


Figure 8 .

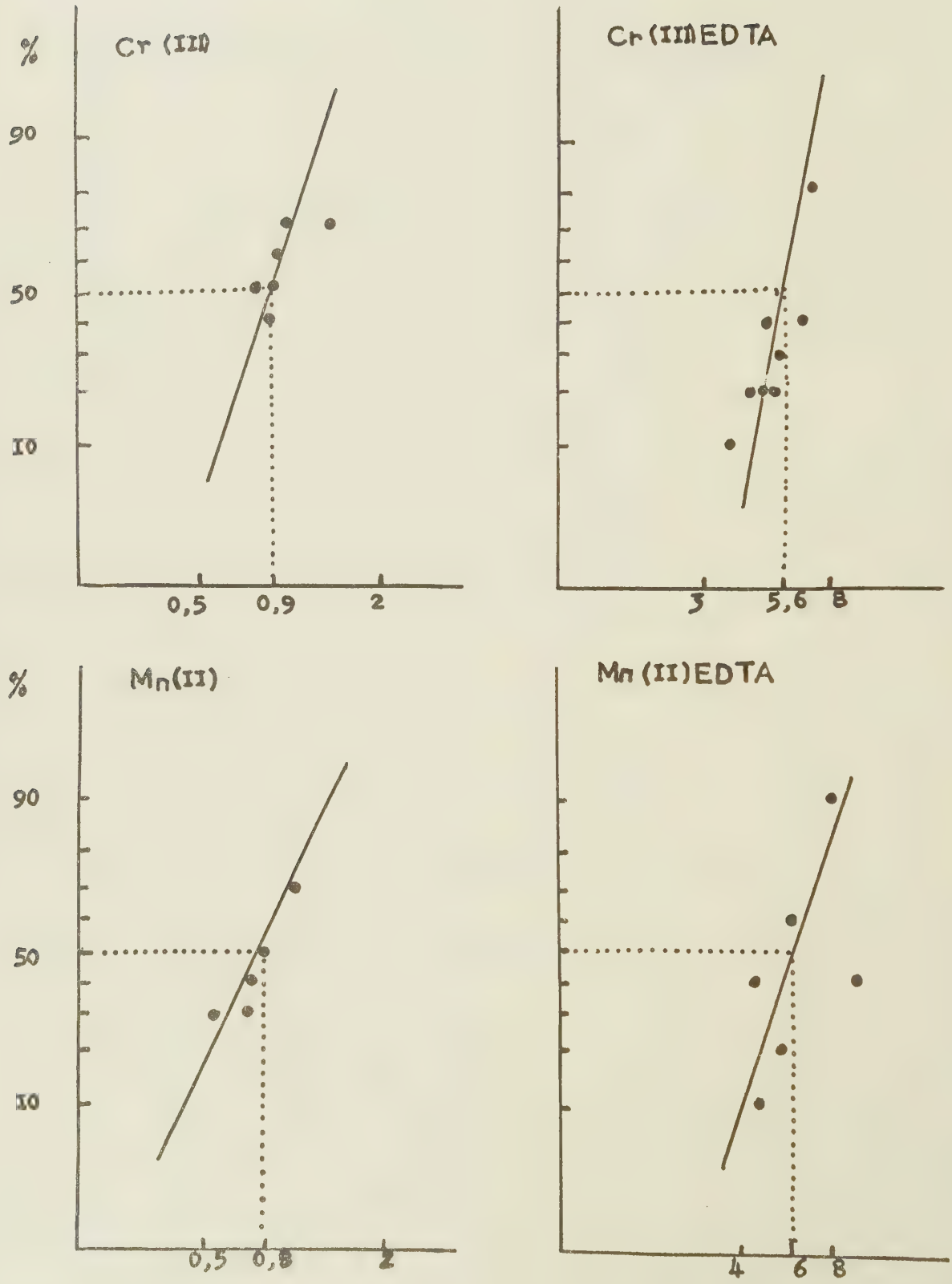

%
Cr (III)
90
50
10
0,5
0,9
2
Cr (III) EDTA
3
5,6
8
%
Mn(II)
90
50
10
0,5
0,8
2
Mn (II) EDTA
4
6
8

Figure 9 .

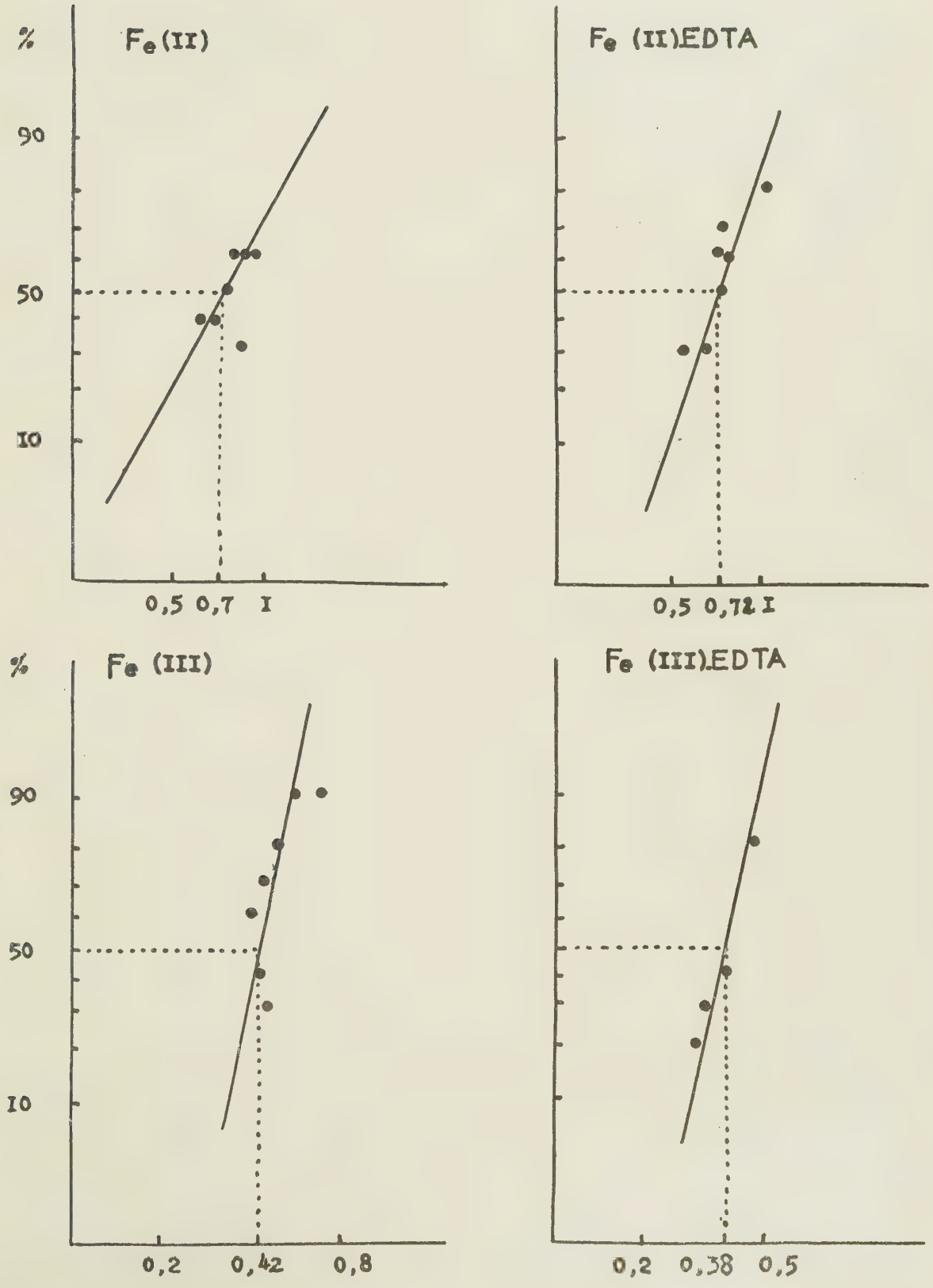

%
Fe(II)
90
50
10
0,5 0,7 I
Fe (II)EDTA
0,5 0,72 I
%
Fe (III)
90
50
10
0,2 0,42 0,8
Fe (III)EDTA
0,2 0,38 0,5

Figure IO .

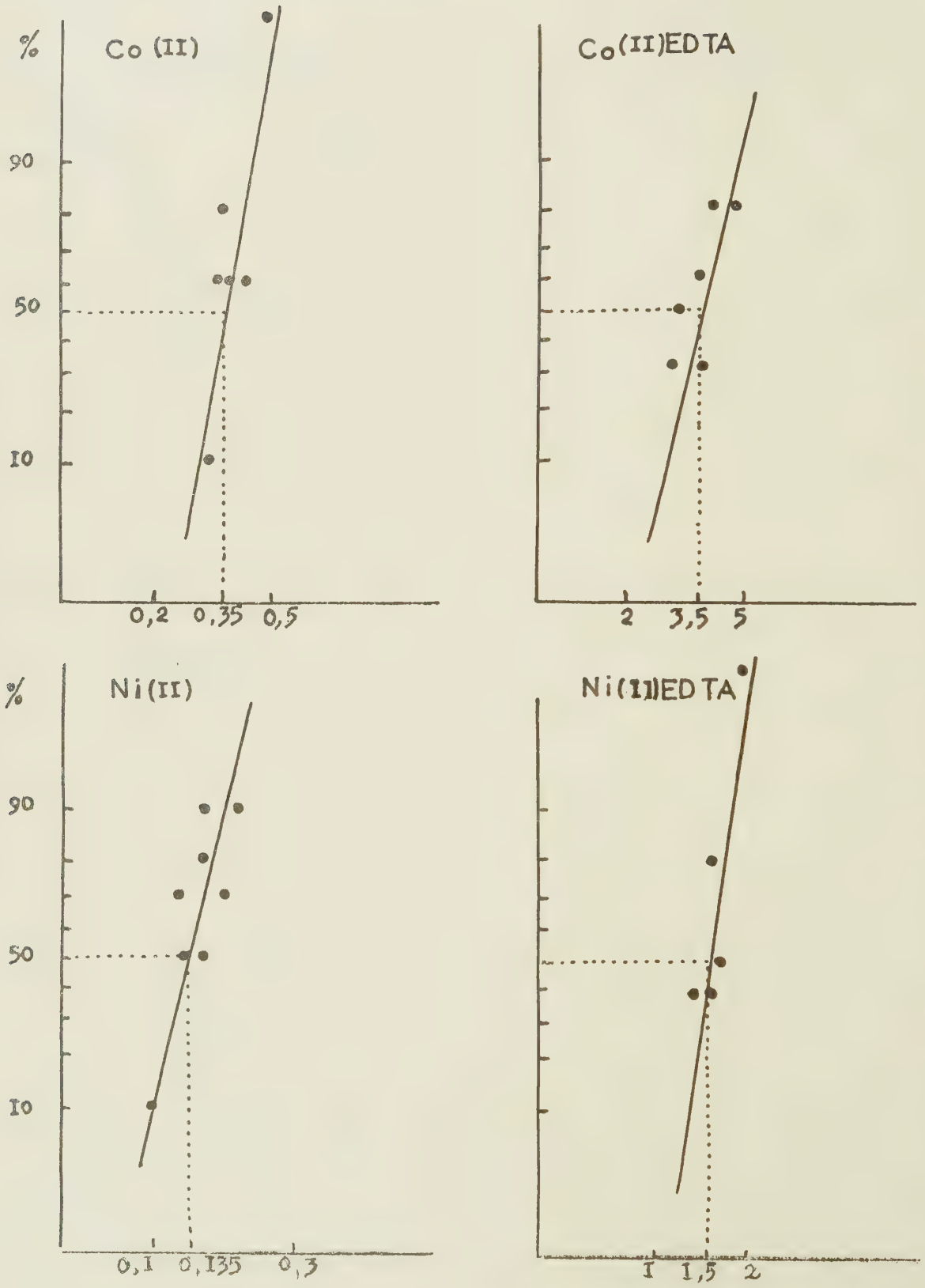

%
Co (II)
90
50
10
0,2
0,35
0,5
Co(II)EDTA
2
3,5
5
%
Ni(II)
90
50
10
0,1
0,135
0,3
Ni(II)EDTA
1
1,5
2

Figure II .

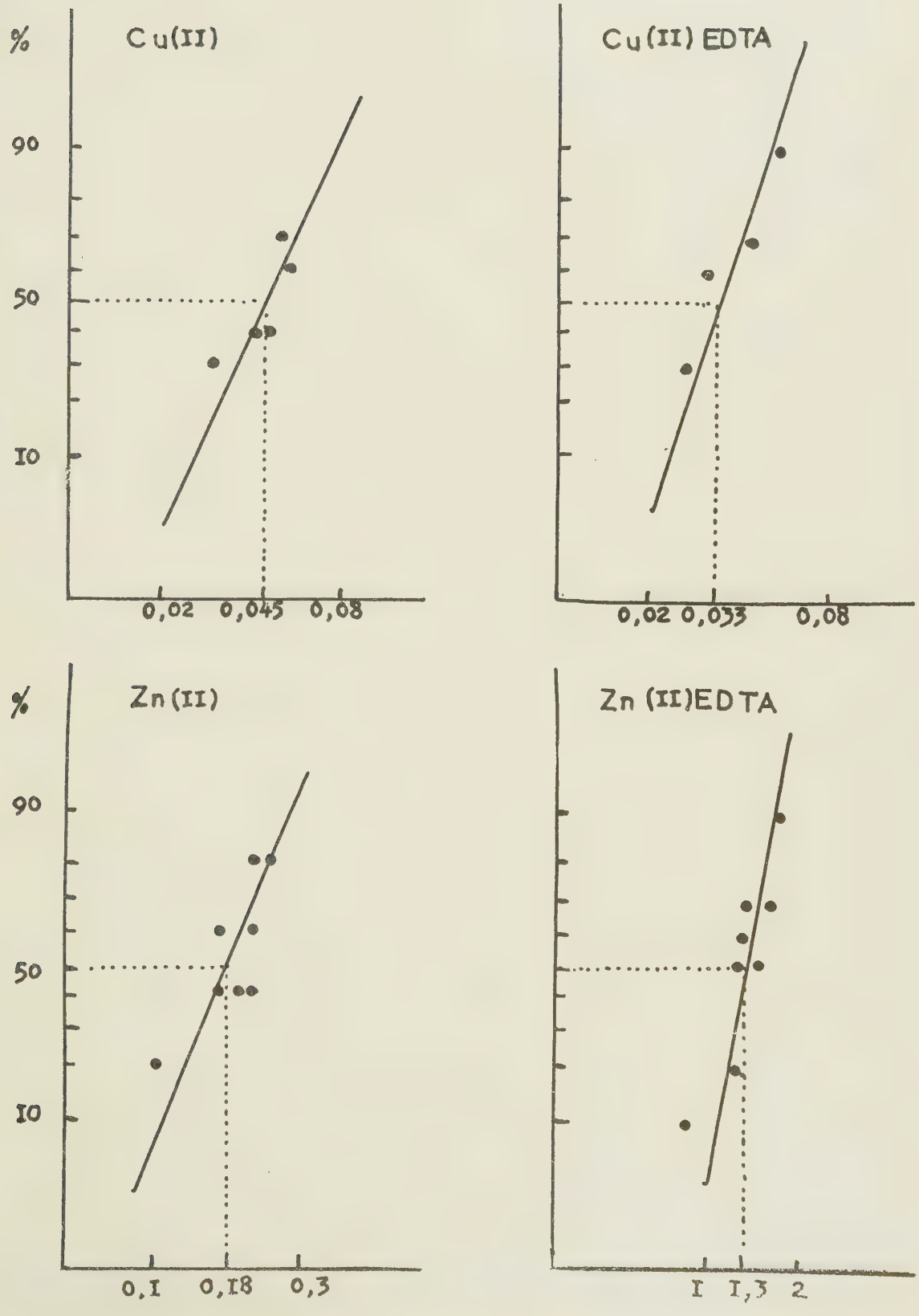

%
Cu(II)
90
50
10
0,02
0,045
0,08
Cu(II) EDTA
0,02
0,033
0,08
%
Zn(II)
90
50
10
0,1
0,18
0,3
Zn (II)EDTA
1
1,3
2

Figure I2 .

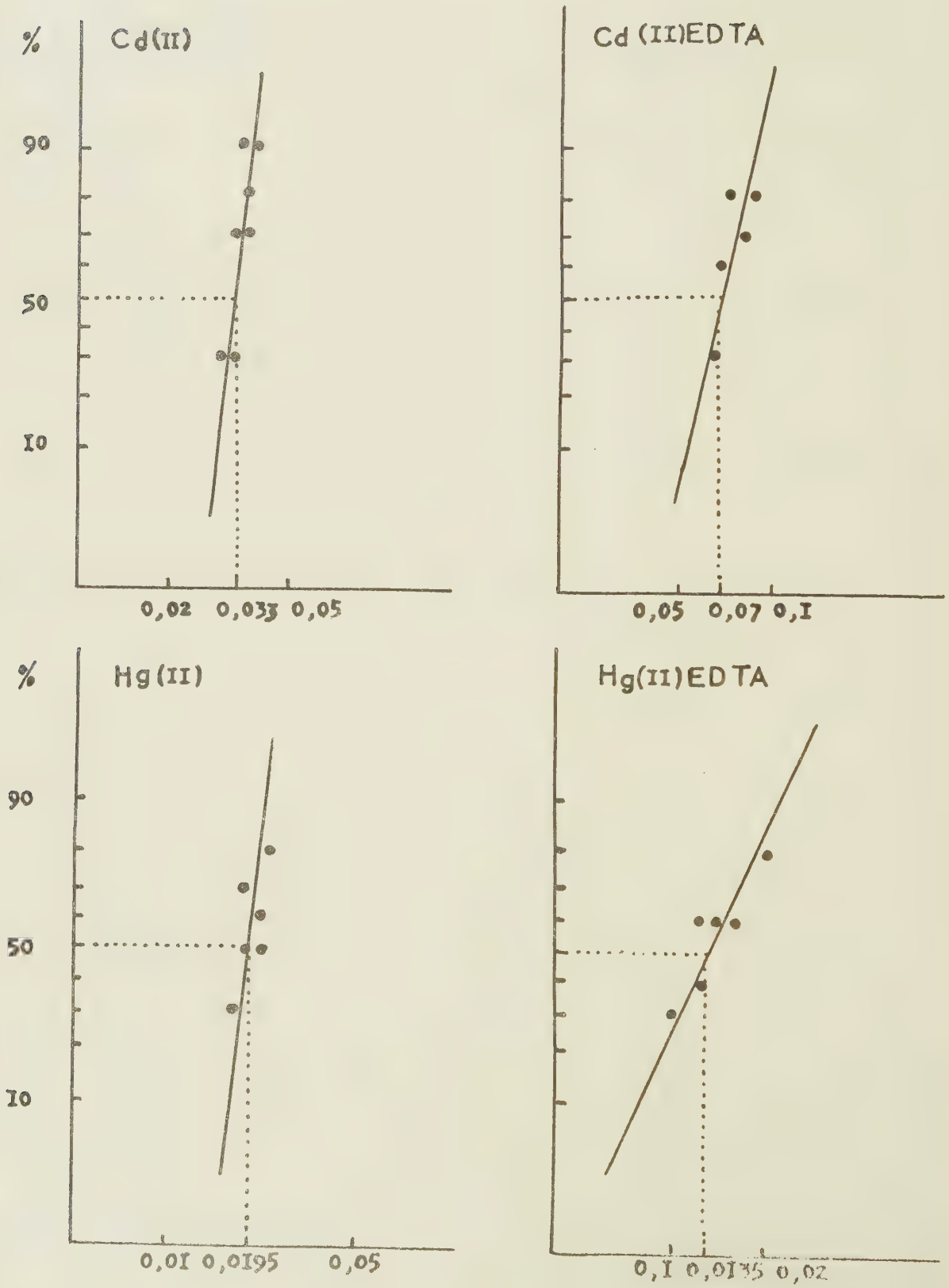
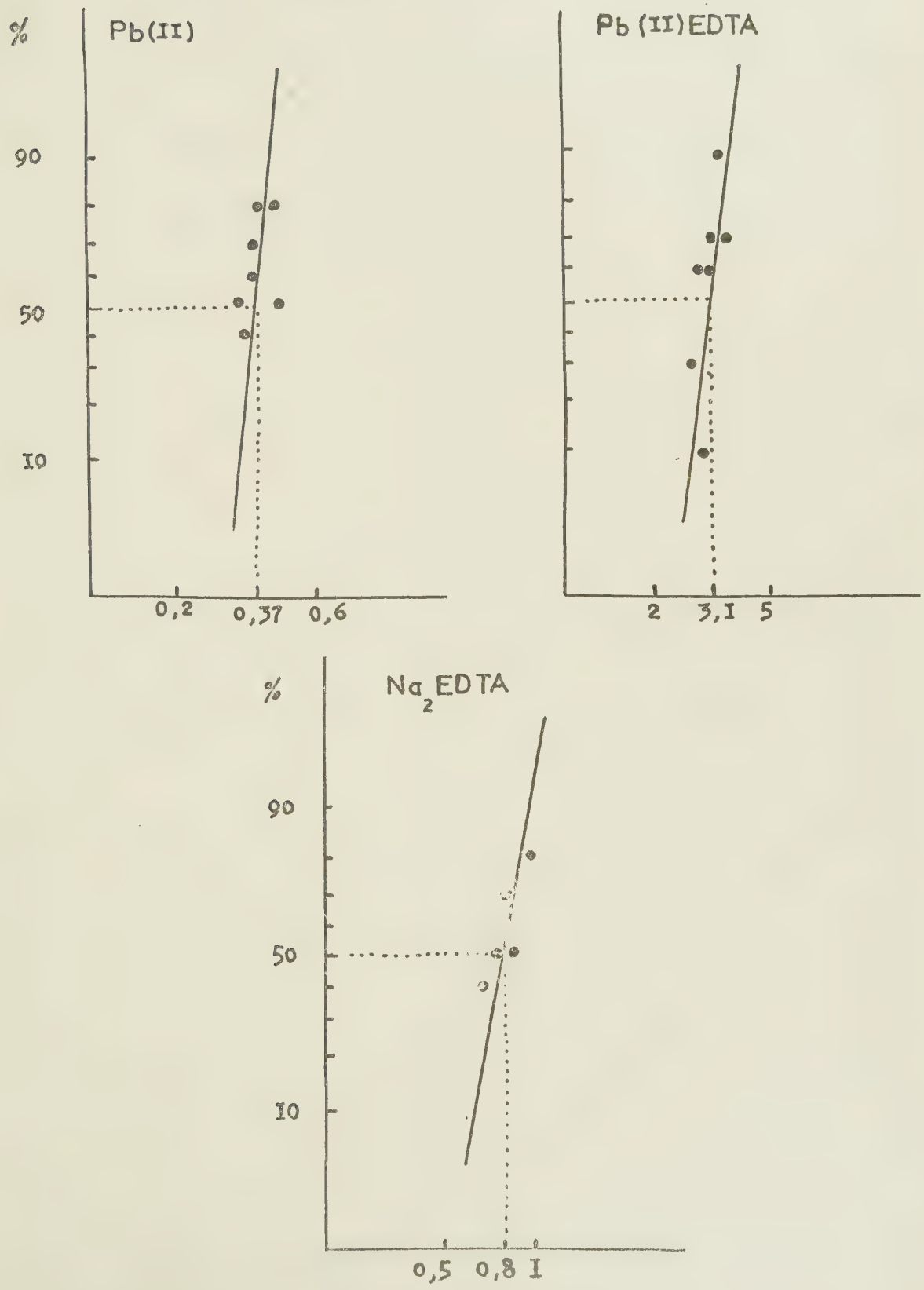

%
Cd(II)
90
50
I0
0,02
0,033
0,05
Cd (II)EDTA
0,05
0,07
0,I
%
Hg(II)
90
50
I0
0,0I
0,0195
0,05
Hg(II)EDTA
0,I
0,0135
0,02

Figure I3 .



DISTRIBUTION DE LA MORTALITE ET VARIATIONS PONDERALES

- Distribution de la mortalité(figures supérieures):en ordonnée le pourcentage de la mortalité ; en abcisse la durée exprimée en jours .
- Variations pondérales (figures inférieures) : en ordonnée le poids exprimé en gramme ; en abcisse la durée exprimée en jours .

Figure I4 .

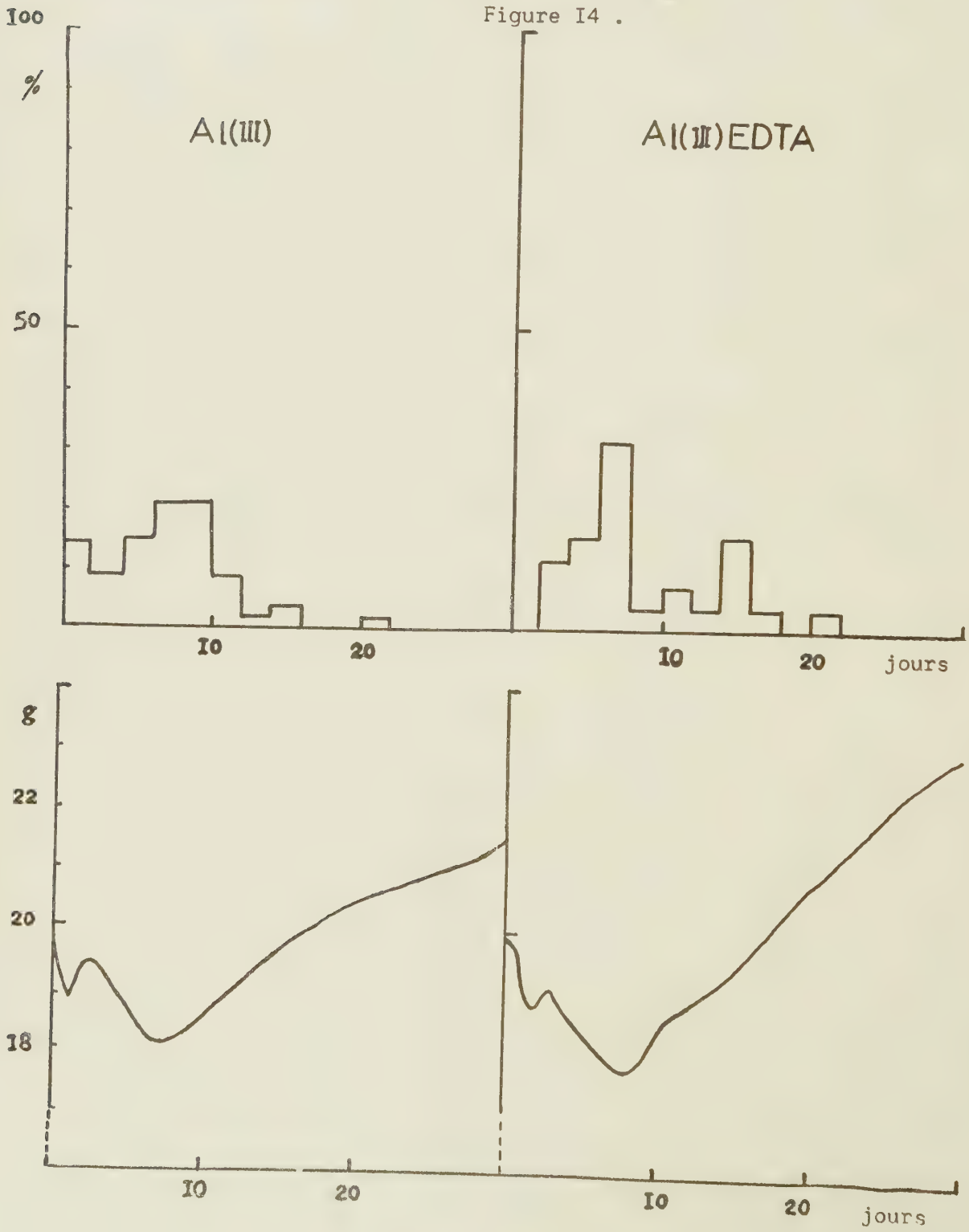
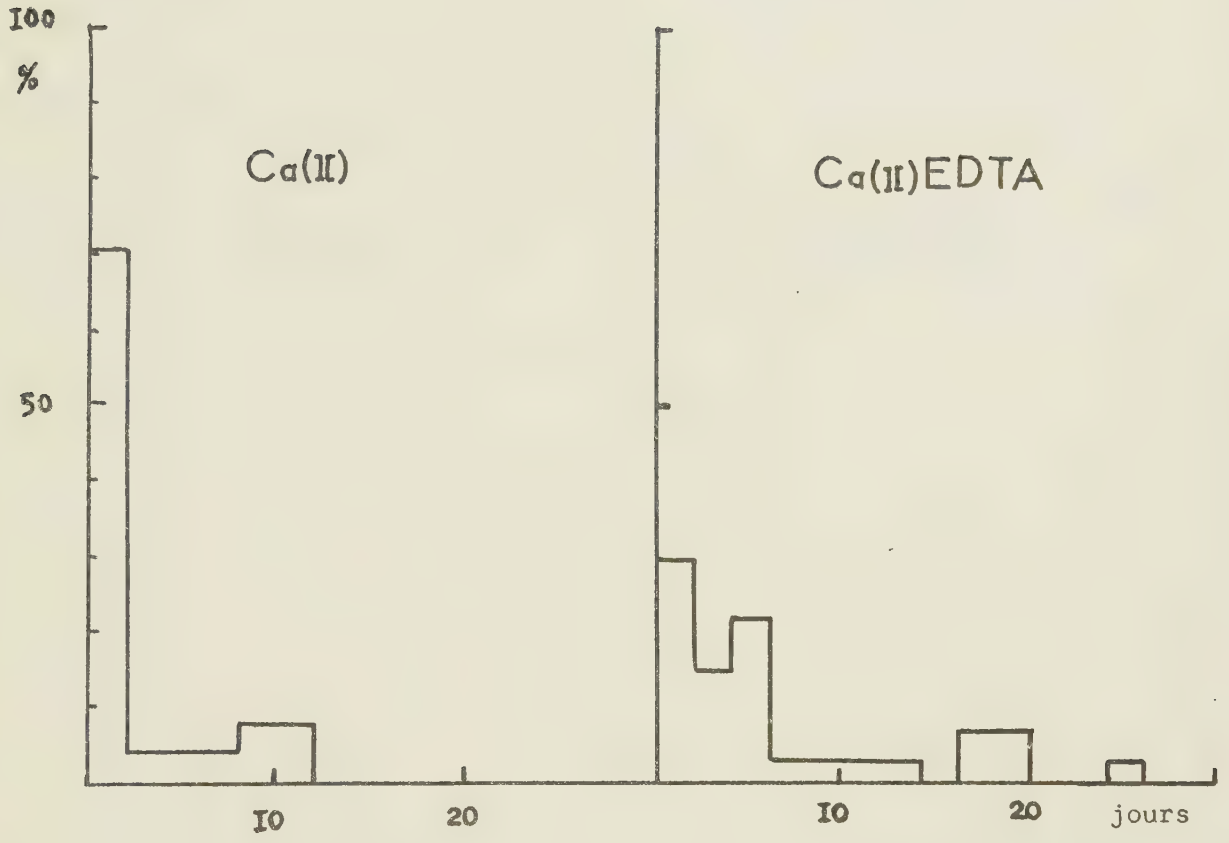


Figure I5 .


100
%
Ca(II)
Ca(II)EDTA
50
10
20
10
20
jours

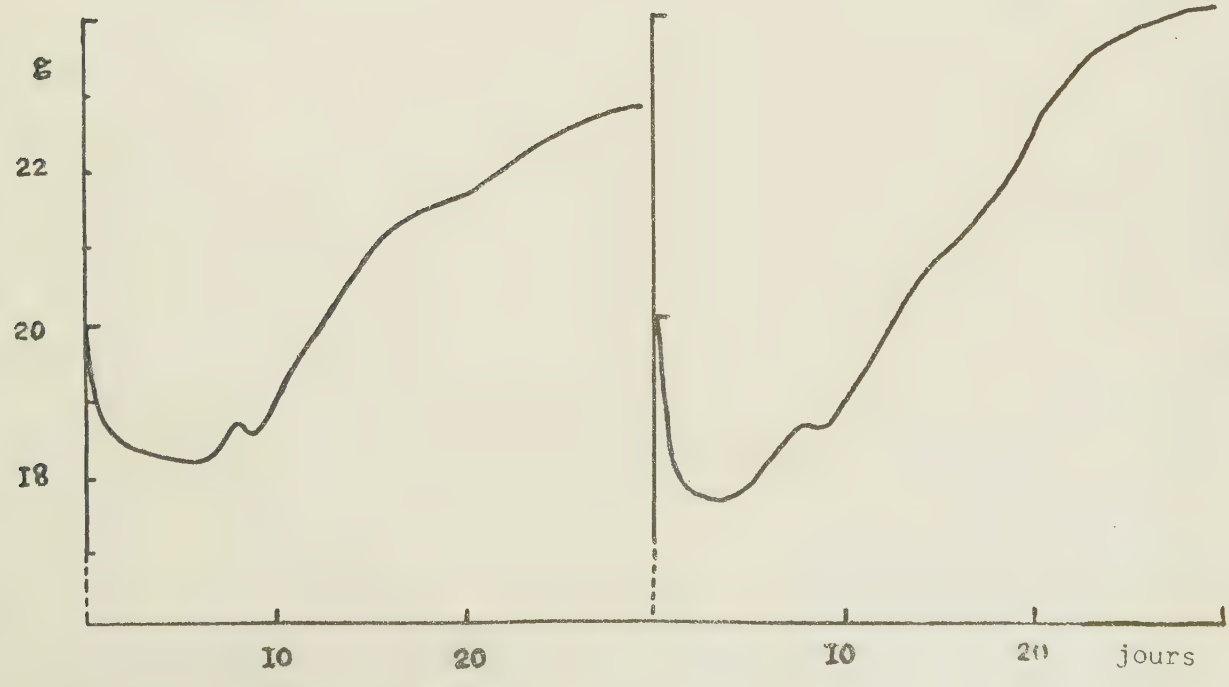

g
22
20
18
10
20
10
20
jours

Figure I6 .

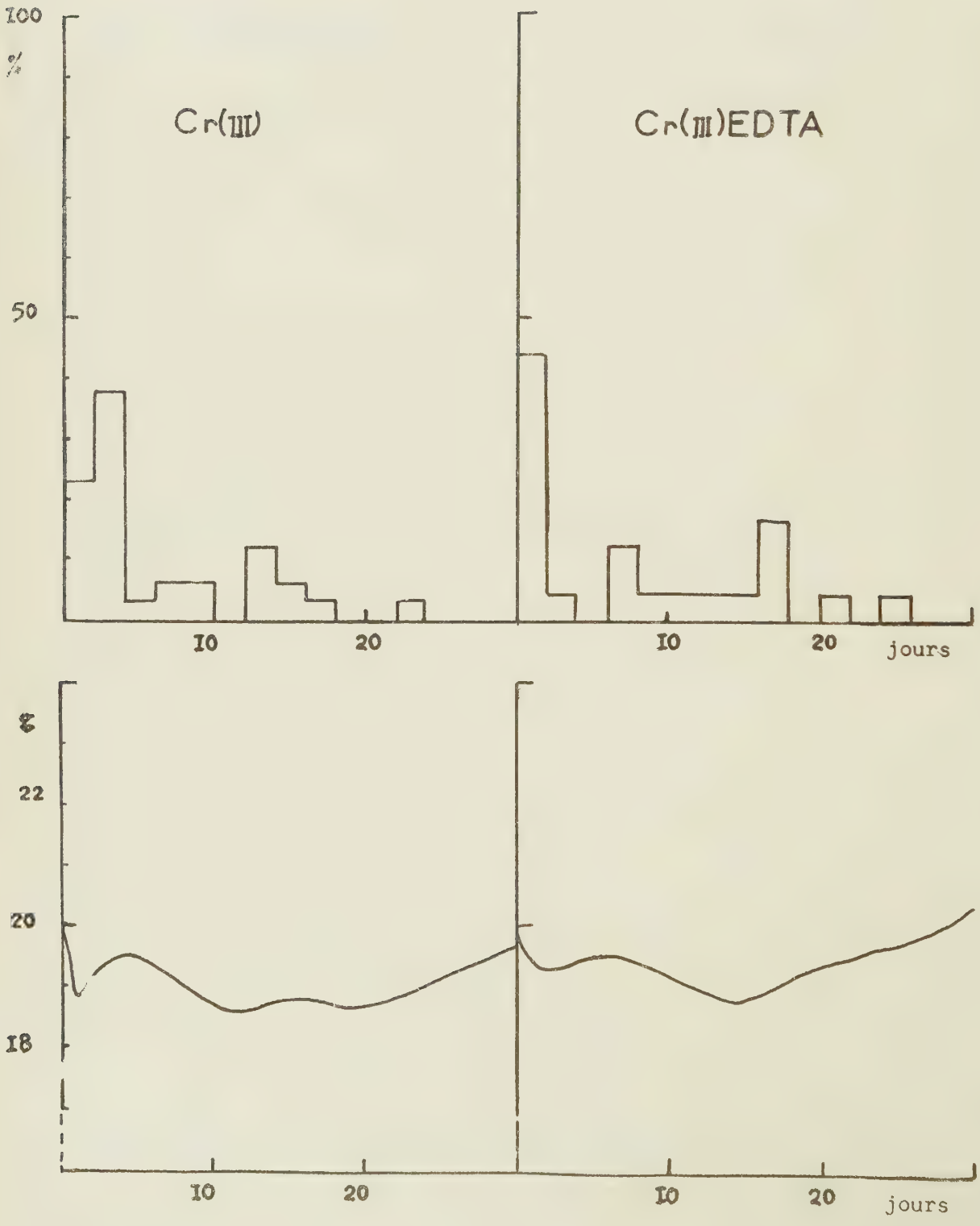

100
%
Cr(III)
Cr(III)EDTA
50
10
20
10
20
jours
°C
22
20
18
10
20
10
20
jours

Figure I7 .

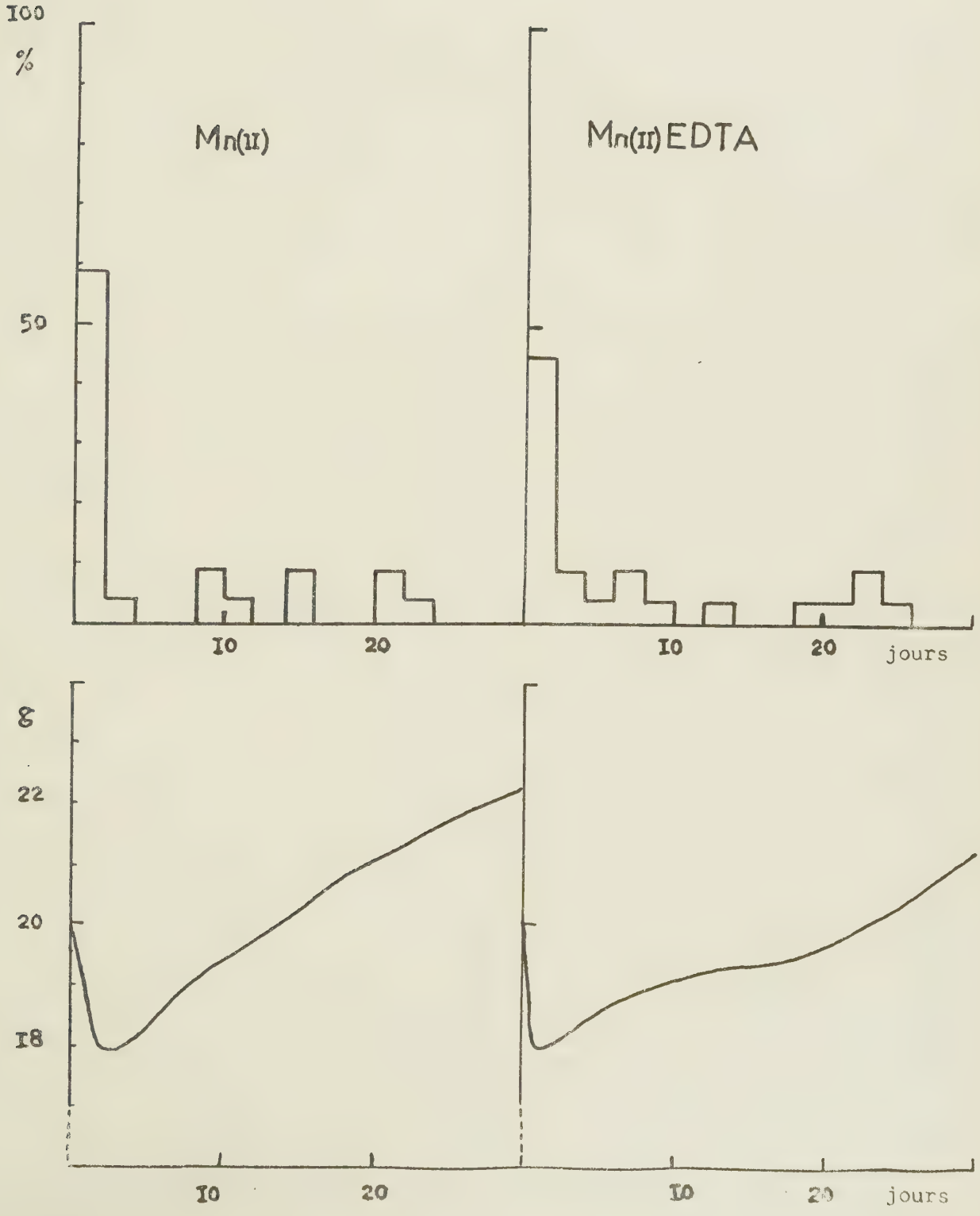

I00
%
Mn(II)
Mn(II) EDTA
50
I0
20
I0
20
jours
8
22
20
I8
I0
20
I0
20
jours

Figure I8 .

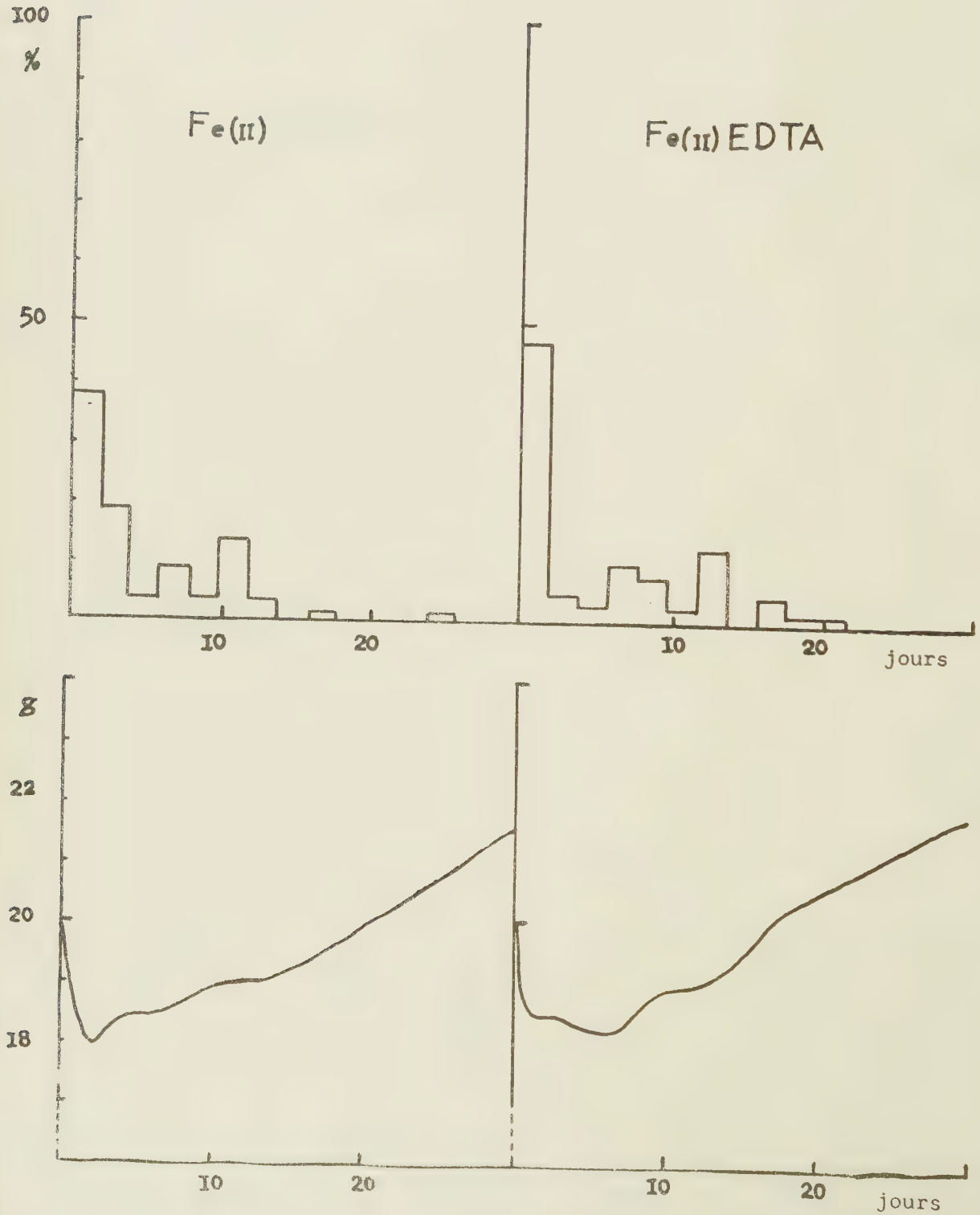

100
%
Fe(II)
Fe(II) EDTA
50
10
20
10
20
jours
g
22
20
18
10
20
10
20
jours

Figure I9 .

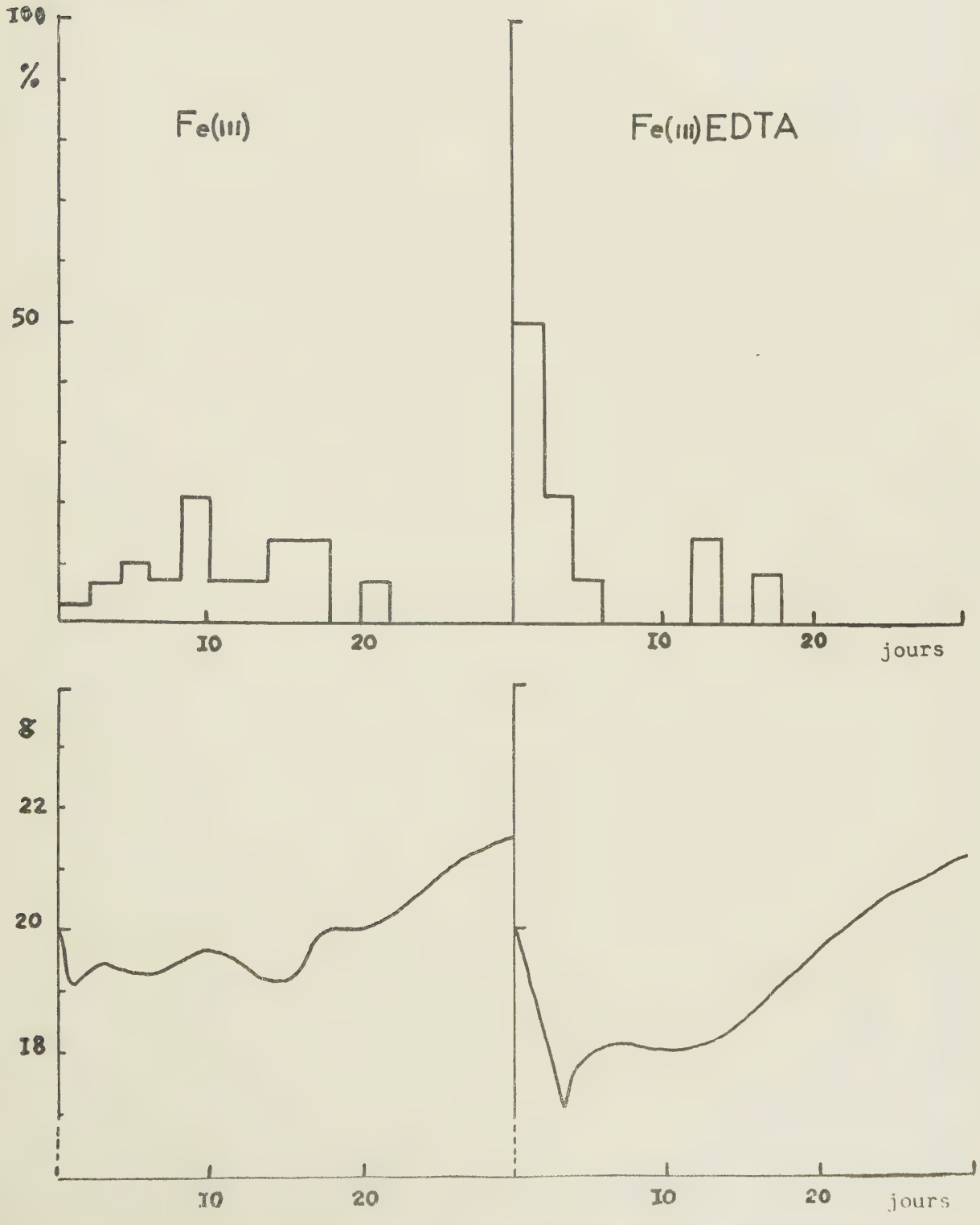
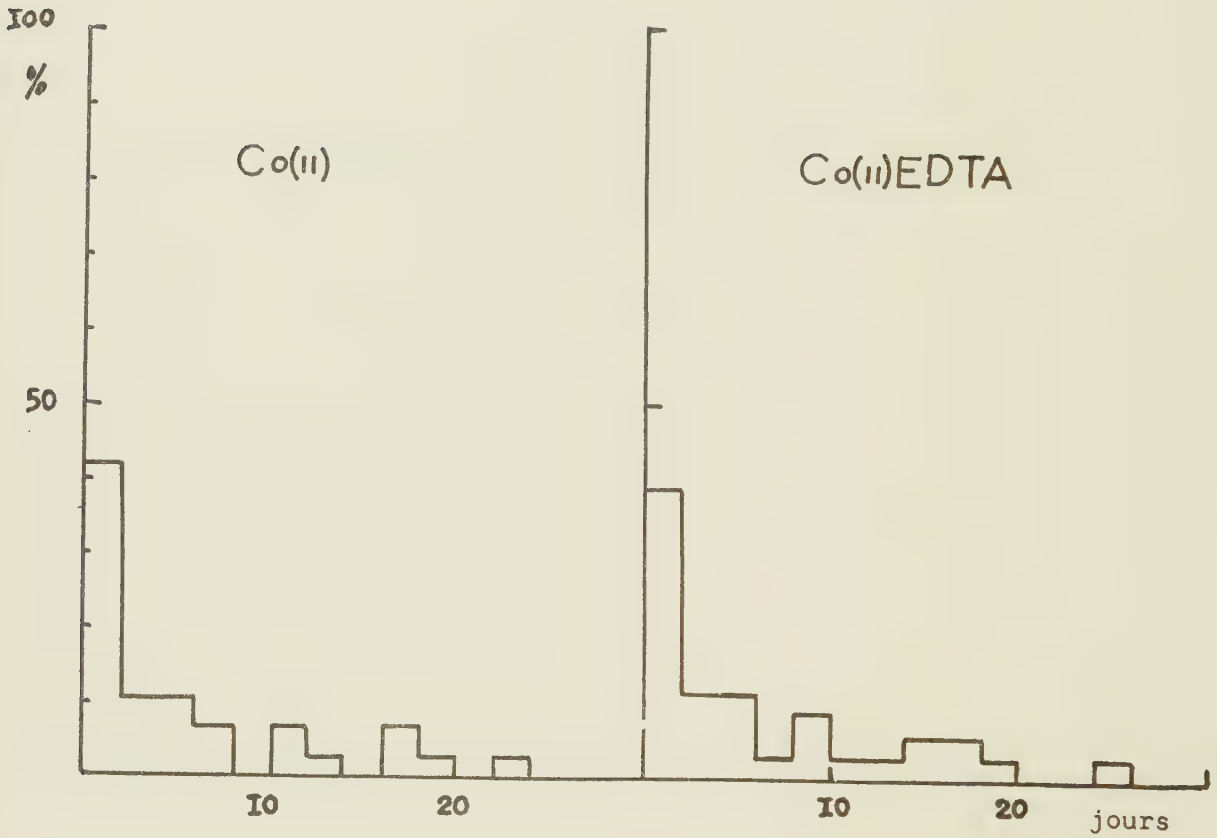

100
%
50
Fe(III)
Fe(III)EDTA
10
20
10
20
jours
8
22
20
18
10
20
10
20
jours

Figure 20 .


100
%
Co(II)
Co(II)EDTA
50
10
20
10
20
jours

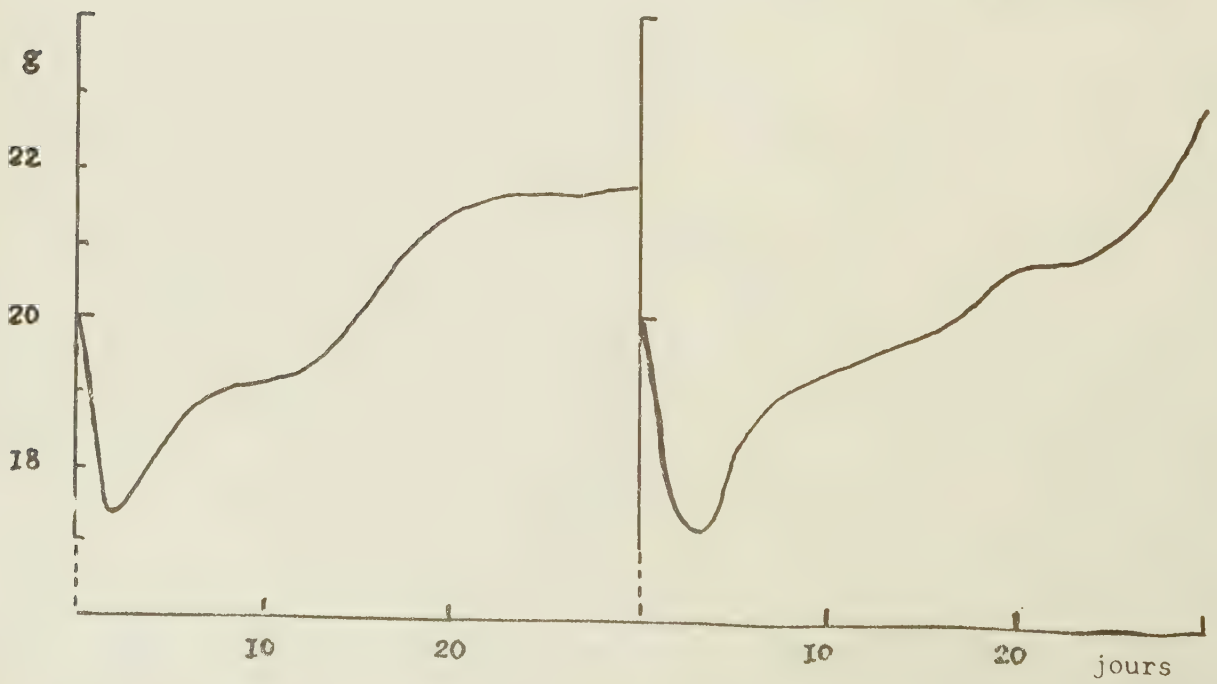

g
22
20
18
10
20
10
20
jours

Figure 2I .

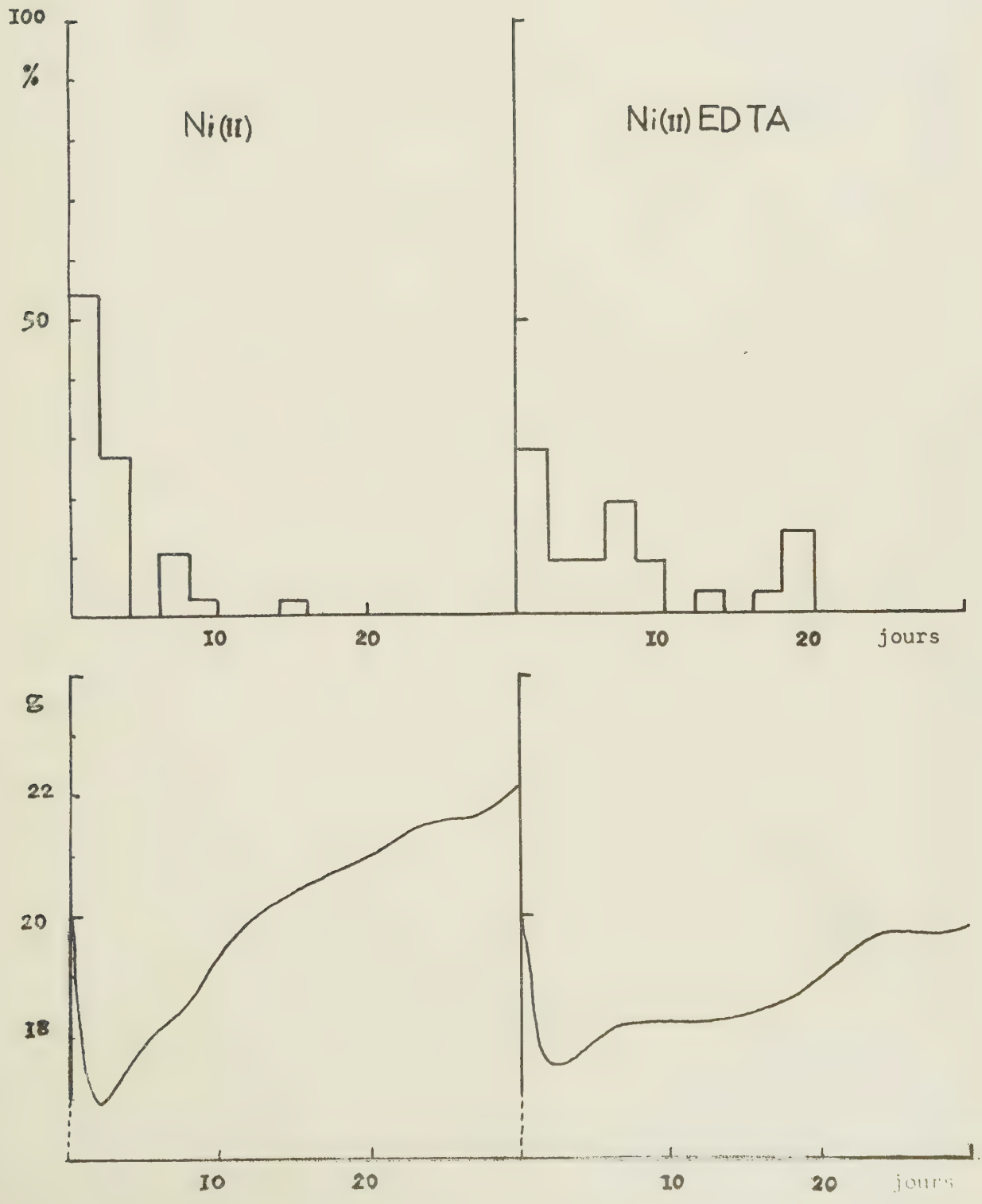

100
%
Ni(II)
Ni(II) EDTA
50
10
20
10
20
jours
g
22
20
18
10
20
10
20
jours

Figure 22 .

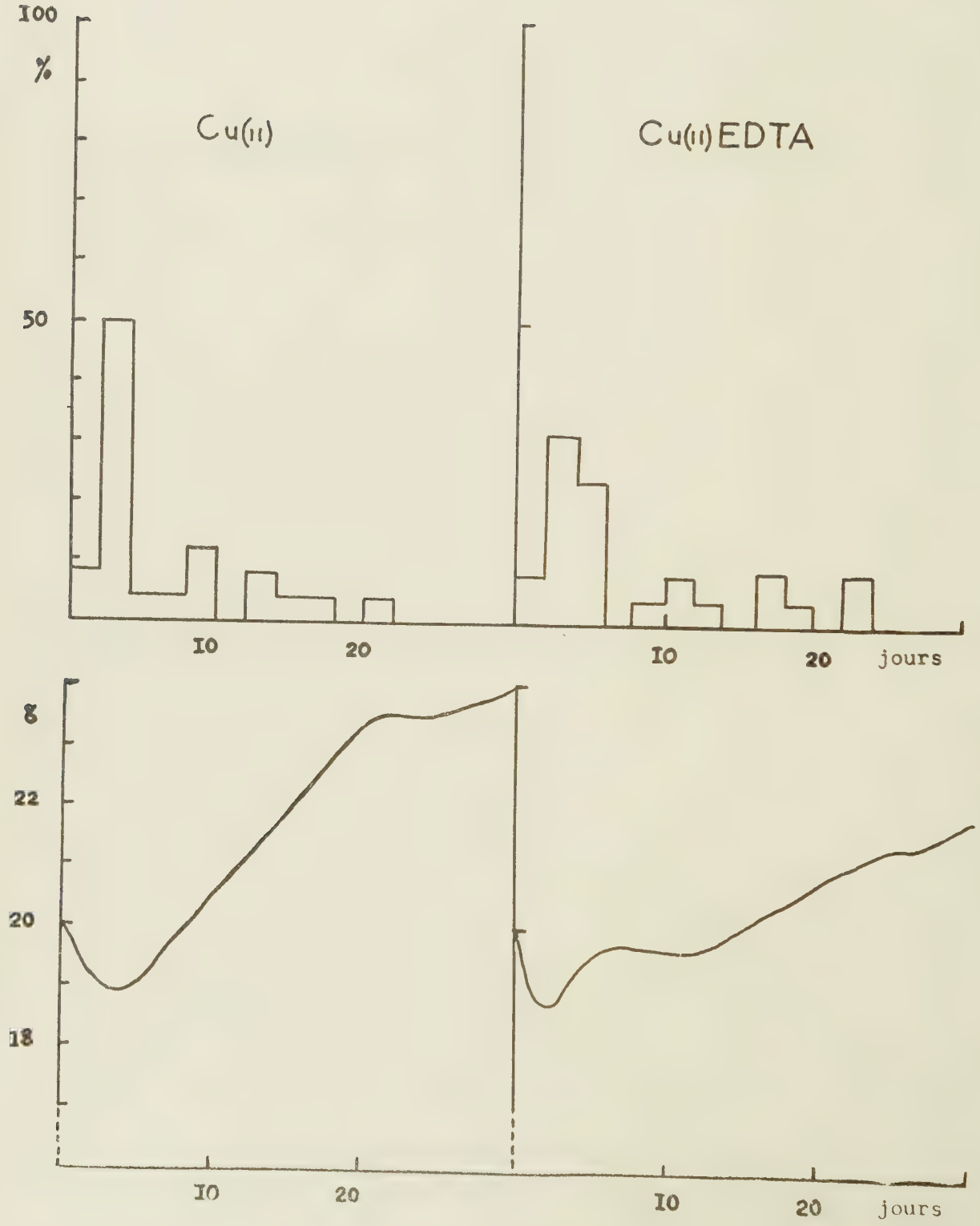
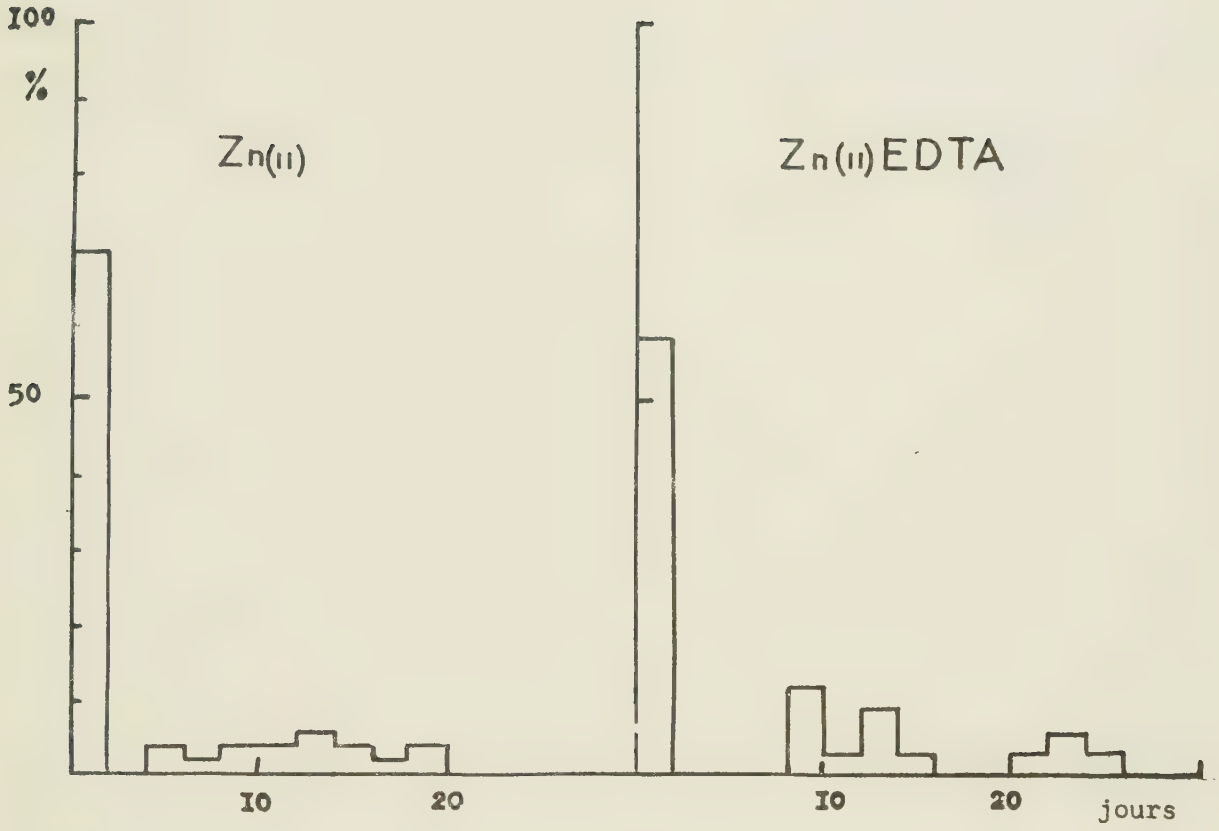

100
%
50
Cu(II)
Cu(II)EDTA
10
20
10
20
jours
g
22
20
18
10
20
10
20
jours

Figure 23 .


100
%
50
Zn(II)
Zn(II)EDTA
10
20
10
20
jours

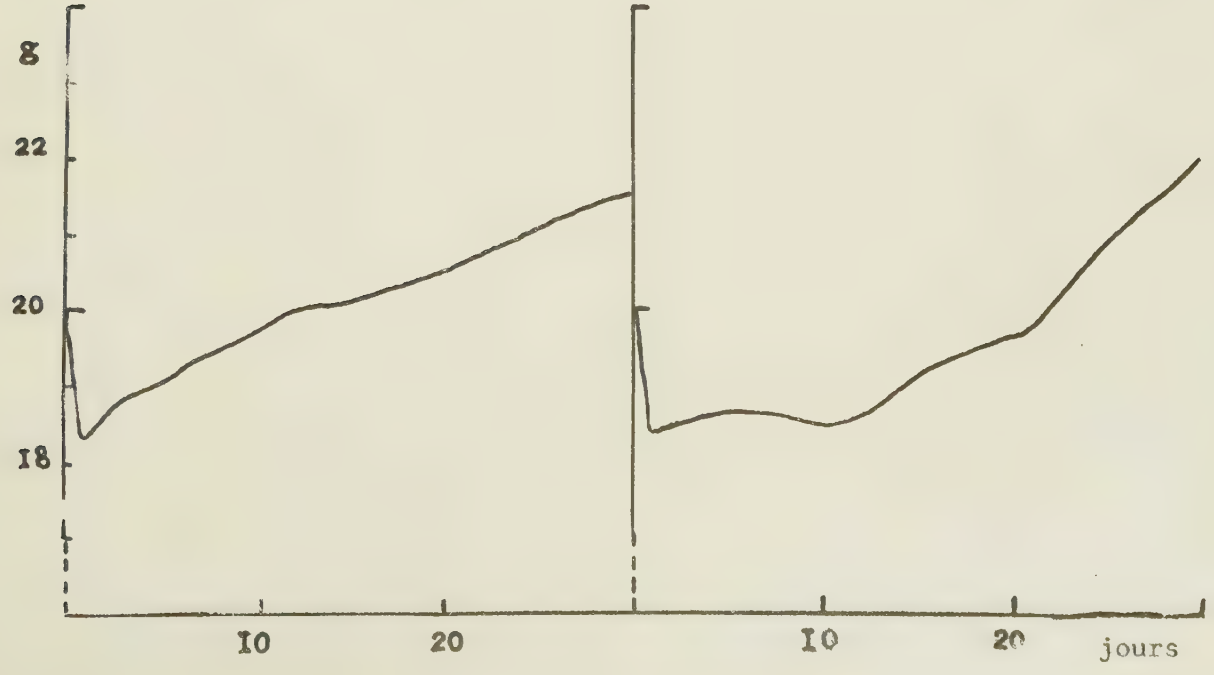
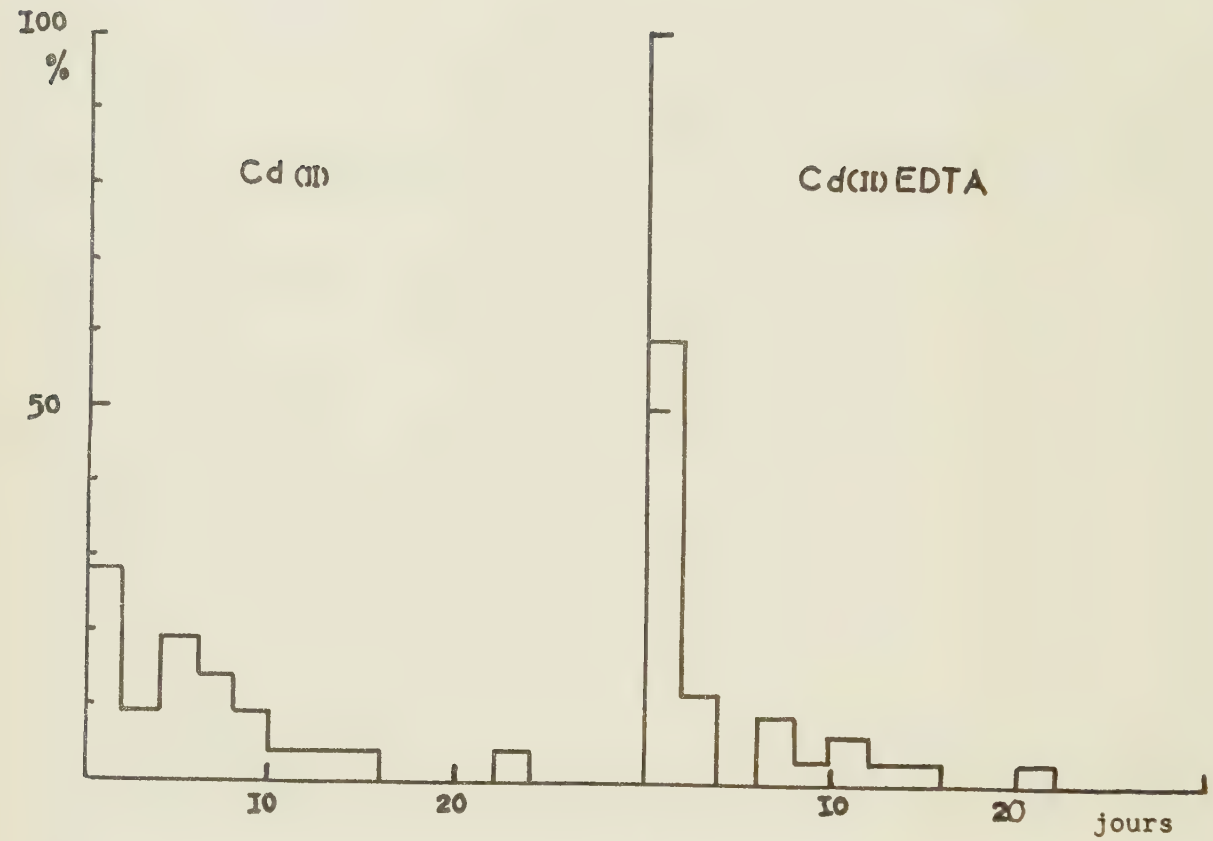

8
22
20
18
10
20
10
20
jours

Figure 24 .


100
%
Cd (II)
Cd(II) EDTA
50
10
20
10
20
jours

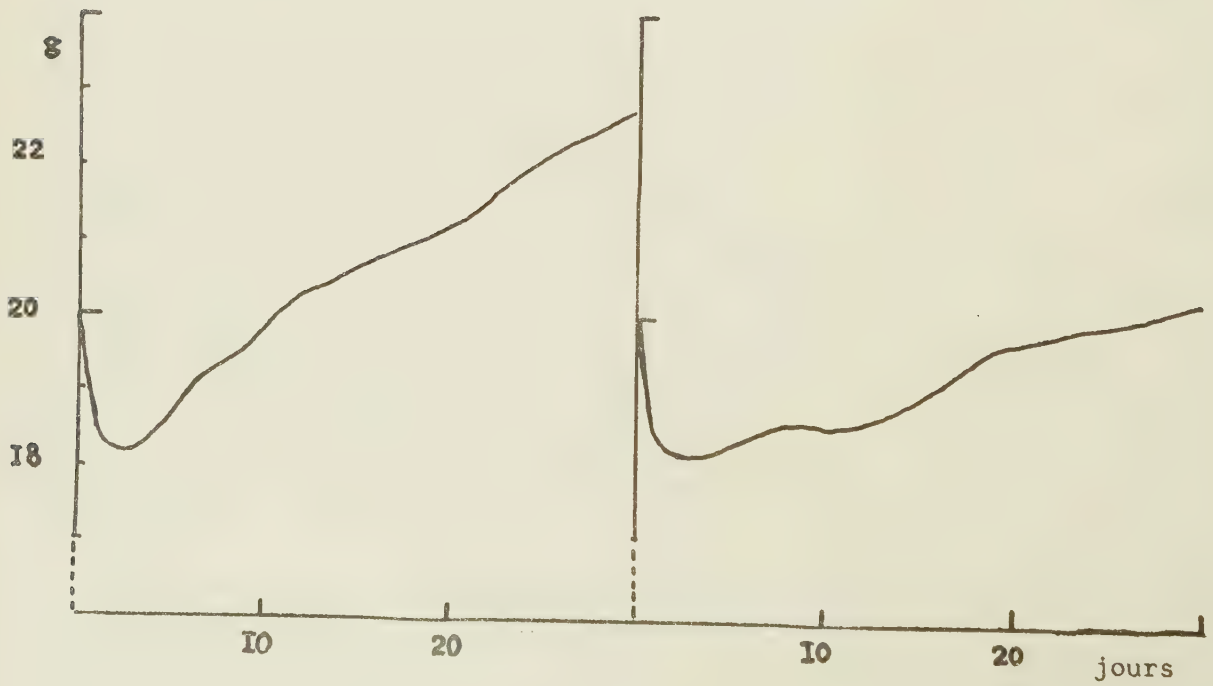

8
22
20
18
10
20
10
20
jours

Figure 25 .

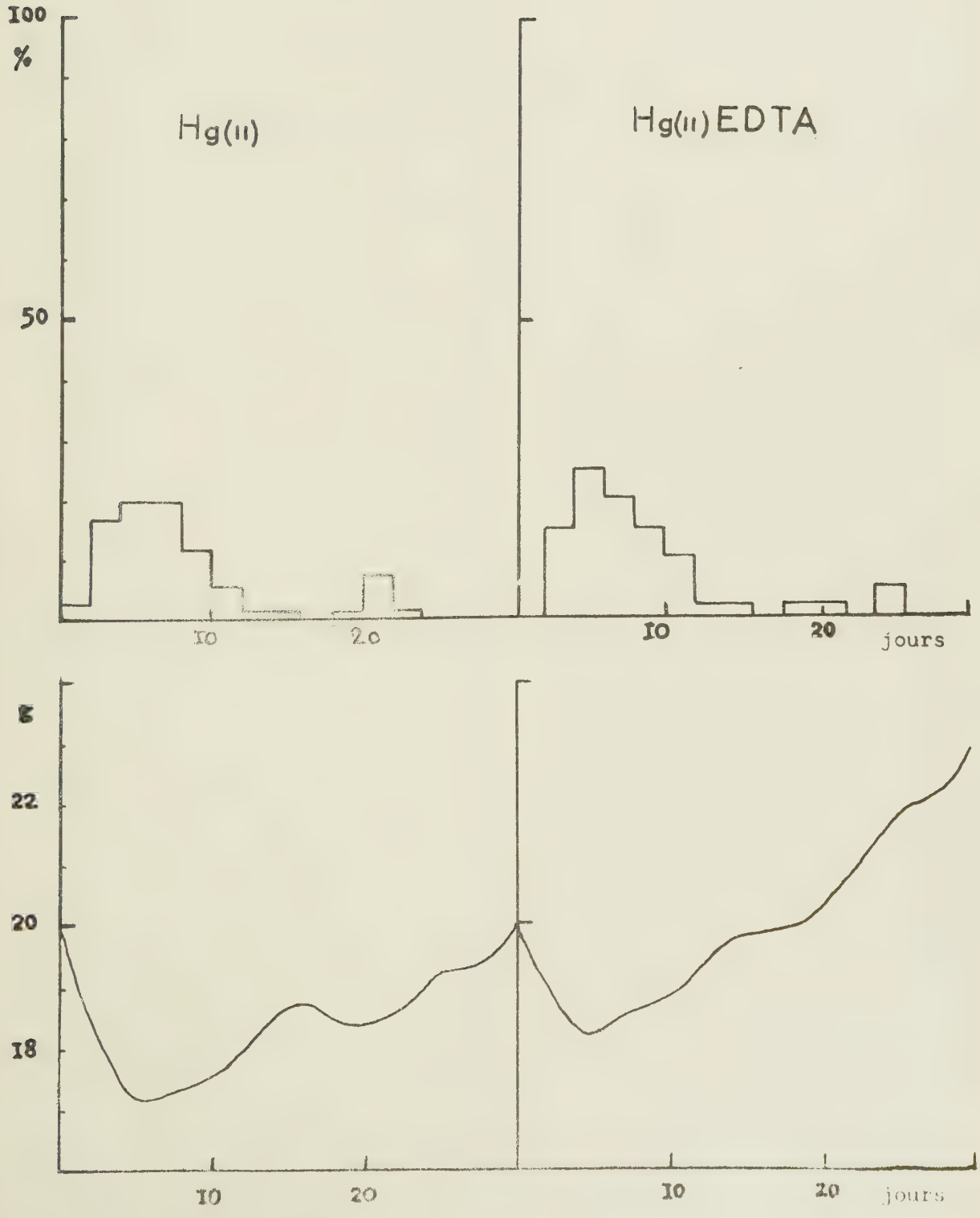

100
%
Hg(II)
Hg(II)EDTA
50
10
20
10
20
jours
8
22
20
18
10
20
10
20
jours

Figure 26 .

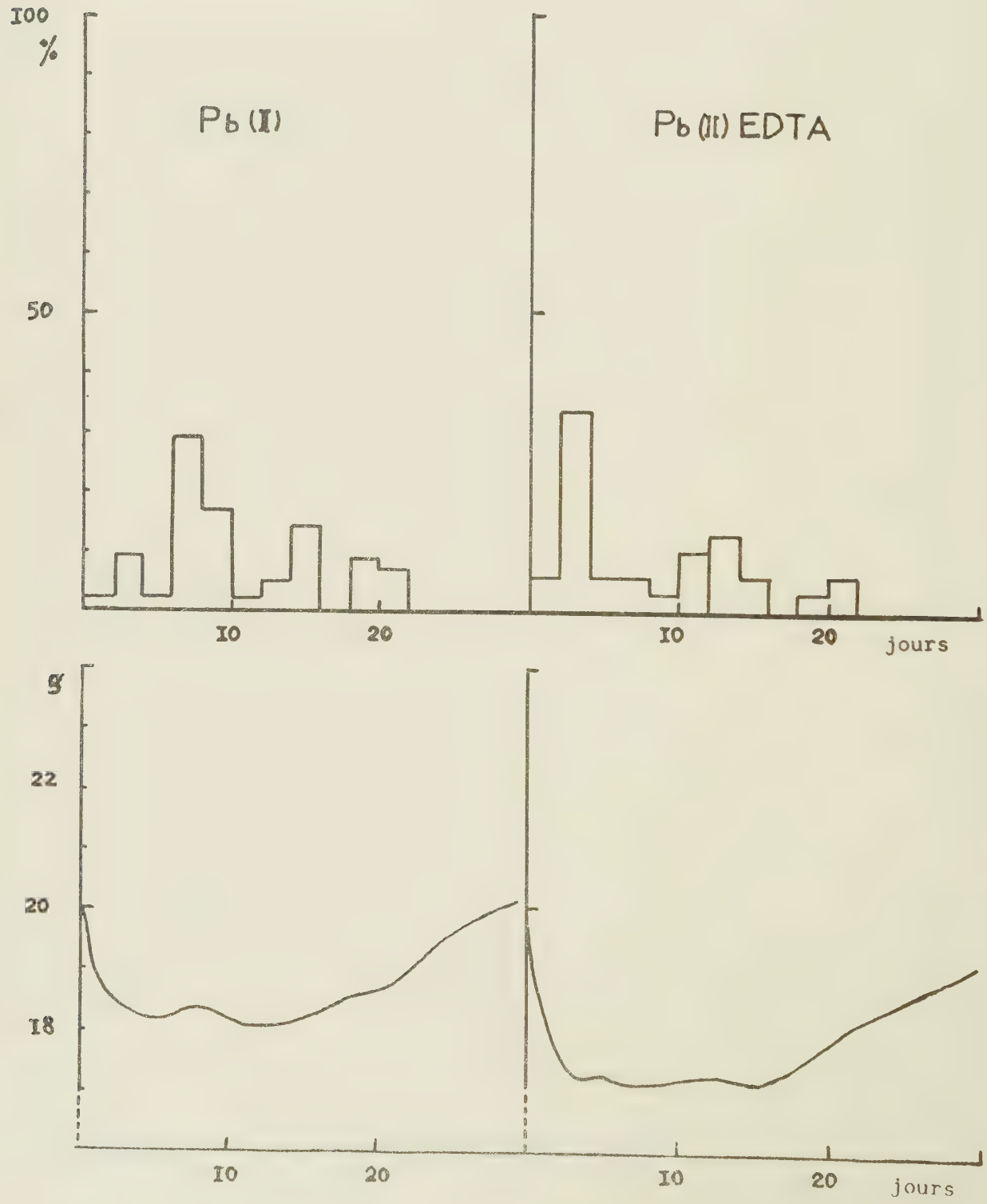
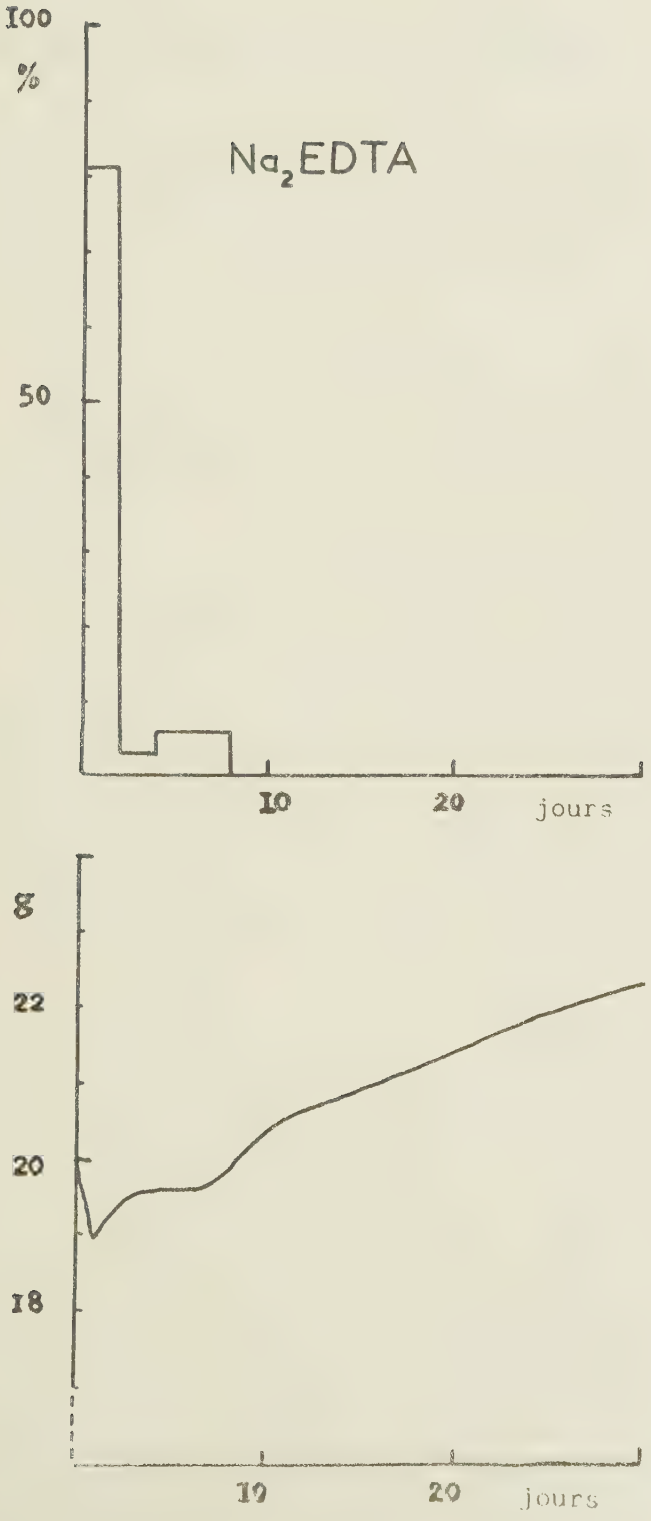


Figure 27 .



CHAPITRE II - 3 -

D I S C U S S I O N

II - 3 - I - TOXICITE COMPAREE

II - 3 - I - I - Les ions métalliques

Les résultats exposés précédemment nous semblent révéler certains caractères de l'intoxication métallique. Suivant le métal considéré ces caractères présentent des différences qui portent sur les trois points étudiés : toxicités relatives, distributions létales et variations pondérales. Nous allons les envisager tour à tour.

a - Toxicités relatives.

Nos résultats (tableau IV du chapitre II - 2) permettent de classer les ions métalliques selon leur ordre de toxicité croissante, de la façon suivante :

Ca (II) < Cr (III) < Al (III) < Mn (II) < Fe (II) < Fe (III) < Pb (II) < Co (II) < Zn (II) < Ni (II) < Cu (II) < Cd (II) < Hg (II).

Sur le plan quantitatif, ces toxicités s'explicitent clairement en comparant les valeurs de toxicité relative établies par rapport à une toxicité de référence, celle de l'ion calcique ; ces toxicités relatives ont été calculées en divisant la valeur de la $DL_{50}/30$ exprimée en milli-atome gramme de métal/kg de l'ion calcique par la valeur de la $DL_{50}/30$ de l'ion métallique correspondant. Les valeurs de toxicité relative sont portées dans le tableau VI. Pour ne prendre que les valeurs extrêmes, on peut voir, ainsi, d'après ce tableau, que l'ion mercurique est environ 130 fois plus toxique que ne l'est l'ion calcique.

TABLEAU VI

Cr (III)	2,77	Co (II)	7,I
Al (III)	3,I2	Zn (II)	I3,8
Mn (II)	3,I2	Ni (II)	I8,5
Fe (II)	3,57	Cu (II)	55,5
Fe (III)	5,95	Cd (II)	75,5
Pb (II)	6,75	Hg (II)	I28,2

Toxicités relatives des ions par rapport à l'ion calcique (Ca (II) = I)

b - Distribution de la mortalité :

Les diagrammes de distribution létale peuvent être comparés en considérant d'une part le pic de mortalité maximale, d'autre part la zone de mortalité sous le double aspect tant de son étendue que de sa situation. Ces critères ne sont pas indépendants : en général, un pic de mortalité important correspond à une létalité précoce, un pic peu accentué correspond à une mortalité retardée.

Suivant ces données on peut répartir les ions métalliques en deux groupes.

Une première série réunit les ions qui provoquent une mortalité importante lors des deux premiers jours de l'intoxication. Dans ce groupe se trouvent : le calcium, le zinc, le manganèse, le nickel, le cobalt et, avec quelques réserves, le fer et le cadmium.

Pour les ions Ca (II), Zn (II), Mn (II), la létalité des deux premiers jours représente plus de 50 p. 100 de la mortalité totale. La mortalité restante se manifeste le plus souvent avec une certaine latence. Pour les ions Ni (II), Co (II), Cd (II), Fe (II), elle décroît progressivement après les deux premiers jours.

Dans la seconde série se placeraient, l'aluminium, le mercure, le plomb, le cuivre, le chrome.

Pour ces ions, la fréquence maximale de mortalité n'apparaît qu'après quelques jours d'intoxication. Elle est assez précoce (entre les 2e et 4e jours) pour le cuivre et le chrome, plus tardive (vers les 8e et 10e jours) pour les autres ions. L'histogramme est dissymétrique : la mortalité croît rapidement et diminue lentement. Les formes des histogrammes mais non les positions du Cu (II) et du Cr (III) les rapprochent de ceux de Ca (II), Zn (II), Mn (II).

Il n'y a pas de correspondance entre cette classification et les valeurs des toxicités relatives : modalités de l'intoxication et valeurs de la toxicité sont des processus indépendants.

Il semble que le premier groupe corresponde à des métaux d'élimination relativement rapide comme le cobalt (79), ceux du second groupe à des métaux d'élimination lente comme le mercure (109). L'élimination de Cd (II) est lente (31), de même celle du fer (139), mais nous avons vu que la valeur réduite du pic de mortalité des deux premiers jours rapprochait ces métaux du second groupe.

c - Variations pondérales.

Les courbes traduisent toujours une chute de poids suivie d'une lente récupération, ce qui révèle l'existence d'effets prolongés.

Le plus souvent les valeurs maximales de la chute de poids et du pic de mortalité sont isochrones. Cette correspondance permettrait d'utiliser les courbes de poids pour définir les deux groupes précédents.

Quelques caractères particuliers sont à remarquer toutefois.

Pour l'ion Ca (II) une mortalité importante les deux premiers jours laisserait supposer une toxicité à action brève. La courbe pondérale montre qu'il n'en est rien ; il faut attendre le 8e jour pour que le poids amorce sa remontée.

La chute de poids provoquée par l'ion Ni (II) est brutale et importante.

La courbe de poids induite par l'ion Co (II) présente un palier au cours de sa remontée entre les 8e et 12e jours.

Dans l'intoxication cuivrique on note une chute de poids réduite suivie d'une remontée rapide et importante.

Dans l'intoxication par le plomb le poids est longtemps stationnaire à son niveau le plus bas, phénomène qui doit être rapproché de l'inhibition de croissance de jeunes rats mâles qui a été observée avec ce métal (83).

On retrouve un phénomène équivalent pour le chrome, après une ébauche de remontée vers le 6e jour.

Malgré ces quelques réserves, on voit cependant, qu'il existe un certain parallélisme entre la distribution de la mortalité dans le temps et les variations pondérales.

II - 3 - I - 2 - Toxicité comparée des chélates métalliques.

Comme nous l'avons fait pour les ions métalliques, nous envisagerons ici, pour les chélates, les toxicités relatives et les modalités de l'intoxication : distributions létales et variations pondérales.

a - Toxicités relatives :

D'après nos résultats (tableau V du chapitre II - 2) les chélates se classent, dans l'ordre de toxicité croissante, de la façon suivante :

Ca (II) < Mn (II) < Cr (III) < Co (II) < Pb (II) < Ni (II) < Zn (II) < Fe (II) < Fe (III) < Cd (II) < Cu (II) < Hg (II).

Les valeurs des toxicités relatives établies par rapport à l'EDTA calcique sont données dans le tableau VII. En prenant ici encore les extrêmes, nous voyons que la toxicité de l'EDTA mercurique est plus de 1000 fois supérieure à celle de l'EDTA calcique.

TABLEAU VII

Mn (II)	2,38	Fe (II)	I9,8
Cr (III)	2,55	Al (III)	26,4
Co (II)	4,08	Fe (III)	37,6
Pb (II)	4,6I	Cd (II)	204,2
Ni (II)	9,53	Cu (II)	433,3
Zn (II)	II,00	Hg (II)	I059,2

Toxicités relatives des chélates par rapport au chélate calcique (Ca (II) EDTA = I).

En fonction des valeurs des $DL_{50}/30$ exprimées en m-at.g de métal (tableau V du chapitre II - 2) les chélates peuvent être répartis arbitrairement en trois groupes :

- chélates faiblement toxiques ($DL_{50}/30 > 3$) : ce sont ceux du calcium, du manganèse, du chrome, du cobalt et du plomb.

- chélates toxiques ($DL_{50}/30 > 0,I$) : ce sont ceux du nickel, du zinc, du fer (II) et (III), de l'aluminium.

- chélates fortement toxiques ($DL_{50}/30 < 0,I$) : ce sont ceux de cadmium, cuivre et mercure.

b - Distribution de la mortalité

Les histogrammes de distribution létale font apparaître deux types de chélates, que l'on peut classer en deux groupes distincts : les chélates provoquant une mortalité précoce avec un pic de mortalité surtout important dans les deux premiers jours, ce sont ceux de Cd, Ca, Cr, Co, Fe (II) et (III), Mn, Ni et Zn ; des chélates provoquant une mortalité retardée pour lesquels le pic de mortalité maximale est postérieur aux deux premiers jours, ce sont ceux de Al, Cu, Hg et Pb.

Le groupe des chélates à toxicité précoce est le plus important.

Pour les chélates de calcium, cadmium et cobalt, la mortalité décroît progressivement à partir des deux premiers jours. Pour les autres chélates elle semble se manifester en deux temps : un pic apparaît au niveau des deux premiers jours suivi d'une mortalité assez irrégulière se manifestant quelques jours après. Ce caractère est particulièrement net sur les histogrammes correspondant au chélate de chrome et au chélate de zinc. Il est encore bien visible pour le chélate ferreux, moins évident pour les chélates de manganèse et de nickel. Les histogrammes de ces deux derniers chélates se rapprochent de ceux des chélates de calcium, cadmium et cobalt. On doit noter la valeur réduite du pic sur les diagrammes correspondant à Ca (II) EDTA et Ni (II) EDTA.

Le groupe des chélates à mortalité retardée est beaucoup plus réduit puisqu'il n'en contient que quatre. Pour deux d'entre eux les chélates de cuivre et de plomb un pic apparaît nettement entre les 2e et 4e jours. Pour les chélates d'aluminium et de mercure, le pic de mortalité maximale apparaît tardivement et les variations sont plus progressives.

La disproportion entre le nombre de chélates rencontrés dans chaque groupe montre que, dans l'ensemble, la mortalité induite par les chélates se manifeste assez rapidement.

c - Variations pondérales

La chute de poids est en général isochrone à la valeur maximale de la mortalité : ceci est particulièrement net avec les chélates de cadmium, calcium, manganèse, nickel et zinc.

Pour les autres chélates quelques particularités doivent être notées.

La chute pondérale s'observe avec un léger retard par rapport au pic de mortalité pour les chélates de fer, de cobalt, de cadmium et de calcium.

Le poids des animaux intoxiqués au chélate de plomb reste stationnaire à son niveau le plus bas pendant une période prolongée ; celui des animaux traités par le chrome chélaté baisse très lentement jusqu'au 14e jour, après avoir esquissé une ébauche de remontée entre les 4e et 6e jours. Les courbes de poids induites par les chélates de fer et le chélate de cobalt présentent des paliers au cours de leur remontée.

Dans l'ensemble le poids des animaux intoxiqués par les chélates demeure pendant longtemps inférieur à sa valeur initiale.

II - 3 - I - 3 - Toxicité comparée des ions et de leur chélate

La toxicité des ions métalliques et de leurs composés a déjà fait l'objet de déterminations expérimentales rapportées dans la littérature. Parmi les valeurs retrouvées, nous avons retenu celles qui sont relatives à la voie intrapéritonéale chez le rat et la souris. Ces données réunies dans le tableau VIII font apparaître des différences importantes même lorsque le composé, la voie d'introduction et l'espèce animale utilisée, sont identiques. On voit ainsi combien il est difficile de comparer de tels résultats. Trop d'arbitraire préside à la détermination d'une toxicité, et seules sont comparables les valeurs expérimentales obtenues par le même opérateur dans des conditions strictement identiques.

TABLEAU VIII

I O N	TOXICITE DE L'ION				TOXICITE DU CHELATE			
	DL 50 mg de métal /kg	ANIMAL	DUREE (J)	REFERENCE	DL 50 mg de métal/ kg	ANIMAL	DUREE (J)	REFERENCE
Ca (II)	65	rat	7	III	98,9	rat	7	III
Ca (II)	I80	rat		I47	60,6	souris		I4
Ca (II)					> 545	souris		5
Ca (II)					92I	souris		I32
Ca (II)					I026	souris		63
Cr (III)	65	rat	7	III	II	rat	7	III
Mn (II)					27I	rat	I0	I43
Fe (II)	40,7	souris		I54	56	souris		I4
Co (II)	83	souris	30	2I	I92,8	souris		36
Co (II)	7,9	rat		84	I69	souris		I4
Co (II)	I2	rat	7	III	35	rat	7	III
Ni (II)	7,88	souris	I0	64	II8	souris	I0	64
Ni (II)	5,9	rat	7	III	I0I	rat	7	III
Cu (II)	I3,2	rat	7	III	7	rat	7	III
Cu (II)					I07	souris		I4
Cd (II)	4,48	souris		I58	I7	souris		63
Hg (II)	2,0	souris		I0				
Hg (II)	8	rat	7	III	4	rat	7	III
Pb (II)	540	rat	7	III	760	rat	7	III

Valeurs de toxicité d'ions métalliques et de chélates empruntées à la littérature. DL_{50} par voie intrapéritonéale chez le rat et la souris.

a - Rapport de détoxication

La modification de la toxicité de l'ion métallique à la suite de sa chélation par l'EDTA peut s'exprimer quantitativement par le rapport de détoxication quotient de la $DL_{50}/30$ du chélate sur la valeur de la $DL_{50}/30$ de l'ion chélaté.

Les valeurs de ce rapport pour les différents métaux étudiés sont données dans le tableau IX ; l'ordre choisi correspond à une efficacité croissante de la détoxication.

Ce rapport caractérise numériquement l'importance de la détoxication et, permet de subdiviser les ions métalliques en deux groupes distincts, l'un pour lequel le chélate est moins toxique que l'ion (Cd, Ca,Cr, Co, Mn, Ni, Pb, Zn), l'autre pour lequel, l'ion sous la forme chélatée, est aussi ou plus toxique (Al, Cu, Fe (II) et (III), Hg).

TABLEAU IX

Nature de l'ion	Rapport de détoxication
Al (III)	0,675
Hg (II)	0,692
Cu (II)	0,733
Fe (III)	0,904
Fe (II)	I,02
Cd (II)	2,I2
Ca (II)	5,72
Cr (III)	6,22
Zn (II)	7,22
Mn (II)	7,50
Pb (II)	8,37
Co (II)	I0,0
Ni (II)	II,I

Rapport de détoxication

b - Distribution de la mortalité

La comparaison des diagrammes de mortalité pour les ions et leurs chélates respectifs révèle certaines similitudes. Des différences apparaissent toutefois si l'on considère l'importance de la mortalité à différents temps de l'intoxication. C'est ainsi que le pic de mortalité maximale de l'ion, que l'on retrouve avec le chélate à une position identique, peut être, suivant le cas, plus accentué, ou plus réduit.

A certains des ions qui provoquent une mortalité précoce, au cours des deux premiers jours de l'intoxication, correspondent des chélates qui produisent également une mortalité rapide. Mais, pour chacun de ces chélates l'importance du pic de mortalité maximale est moindre que celle de l'ion correspondant. Ce caractère est très net pour le calcium et le nickel, plus discret pour le zinc et le cobalt. On retrouve ce phénomène avec le cuivre qui se rapproche de ce groupe de par l'allure du diagramme. La chélation des ions Ca, Ni, Zn, Co, Cu, peut donc retarder dans une certaine mesure l'apparition des phénomènes toxiques responsables de la mort.

Ce processus n'est pas général, il est même inversé avec des cations qui provoquent une mortalité retardée : la chélation du chrome et du plomb avance de deux et quatre jours le pic de mortalité maximale.

On peut donc, semble-t-il, conclure de ces observations que la chélation retarde l'apparition de la mortalité pour les ions à activité rapide et qu'inversement elle favorise une mortalité précoce pour les ions dont la toxicité se manifeste tardivement.

c - Variations pondérales

Les variations pondérales faisant suite à une intoxication par les ions et leurs chélates respectifs sont le plus souvent parallèles et ceci est particulièrement évident avec l'aluminium, le chrome, le fer ferreux, le mercure et le plomb.

En général la chute de poids consécutive à l'injection du chélate persiste au moins aussi longtemps que la baisse pondérale qui suit l'injection de l'ion métallique non chélaté. Les variations de poids qui accompagnent l'intoxication par l'ion ou par le chélate sont quantitativement de même ordre ; les quelques différences observées, notamment dans le cas du plomb, de l'aluminium et du mercure ne nous paraissent pas significatives.

Ainsi les modalités de l'intoxication induite par les ions métalliques et par leurs chélates nous ont montré beaucoup plus de similitudes que de différences. Dans la mesure où les caractères étudiés donnent une image convenable de l'intoxication, on peut dire que l'intoxication par les ions métalliques d'une part, par leur chélate d'autre part, présentent de nombreux points communs.

II - 3 - 2 - MECANISME DE LA TOXICITE

II - 3 - 2 - I - Mécanisme de l'activité toxique des ions

Dans l'état des connaissances actuelles il est sans doute difficile d'expliquer des pouvoirs toxiques aussi différents pour des entités chimiques qui sont, tout compte fait, souvent très proches.

a - Le point de vue biologique :

La vie s'étant progressivement organisée et son évolution s'étant faite dans le sens d'une adaptation de plus en plus précise aux conditions du milieu extérieur, on pourrait penser, à première vue, qu'il puisse exister certaines relations entre la toxicité et l'abondance ou la rareté des métaux dans la nature.

Nous avons comparé dans ce but les valeurs des toxicités obtenues, aux fréquences relatives des mêmes éléments métalliques dans l'écorce terrestre. Comme le montre la figure 28, il ne semble pas exister de relation valable entre ces deux phénomènes.

On peut également envisager l'hypothèse d'une adaptation de l'organisme. Si certains ions sont amenés à jouer un rôle biologique privilégié et se retrouvent de ce fait en plus grande quantité dans l'organisme, d'autres qui ne participent apparemment pas à une fonction se retrouvent en quantités infimes. Il semble logique de penser, à priori, que les métaux indispensables soient les moins toxiques ainsi que ceux pour lesquels existe un contrôle homéostasique.

Le graphique de la figure 28 montre que le calcium, constituant important de l'organisme est beaucoup moins toxique que les autres métaux ; en revanche, le mercure ou le cadmium, normalement absents, sont très toxiques. Pour les autres éléments, il n'apparaît pas de relations évidentes ; l'aluminium et le manganèse sont moins toxiques que le fer plus abondant dans l'organisme ; le zinc et le cuivre sont plus toxiques que le cobalt ou le manganèse ; le chrome qui se retrouve en très faibles quantités dans les tissus n'en est pas moins l'un des métaux les moins toxiques.

De même nos résultats ne permettent d'établir aucun rapport entre la toxicité et le rôle biologique des métaux. Des métaux essentiels tels que le fer ou le cuivre se sont avérés très toxiques dans nos conditions expérimentales, la toxicité du cuivre est supérieure à celle du nickel ou du plomb, métaux qui n'ont pas pour l'instant d'activité physiologique définie.

Ces considérations ne mettent donc pas en évidence une relation quelconque entre la toxicité des ions métalliques et leur importance biologique. On doit remarquer toutefois que les toxicités ont été déterminées par voie parenthérale et que l'introduction quasi directe d'un ion métallique dans le milieu intérieur ne permet pas aux mécanismes d'absorbtion de jouer un rôle sélectif dans la mesure où ils sont capables d'une telle fonction.

Une étude de la toxicité per os permettrait, peut-être, de trouver des relations qui n'ont pu être mises en évidence dans notre expérimentation.

b - Le point de vue physico-chimique :

Une autre hypothèse peut être émise : existe-t-il une relation entre la toxicité des ions métalliques et leurs propriétés physico-chimiques ?

Comme nous l'avons rappelé dans notre introduction diverses études ont été réalisées dans ce sens. Certains travaux se sont ainsi appuyés sur l'inhibition, in vitro, de systèmes enzymatiques par les ions métalliques. Il s'agit de techniques classiques pour le biochimiste et bien souvent du seul moyen d'investigation dont il dispose ; il serait risqué cependant d'assimiler un être vivant à une entité chimique relativement aussi simple que peut l'être un enzyme et d'extrapoler les résultats obtenus in vitro à un organisme dans son intégrité.

Mais le fait qu'un être vivant est un milieu complexe, hétérogène sans pour cela n'en être pas moins parfaitement organisé, ne paraît pas constituer un facteur absolument limitatif. Cette complexité au contraire constitue un moyen d'éviter certaines affinités, certaines sélectivités individuelles comme peuvent l'être l'inhibition d'un système enzymatique donné ou l'atteinte d'un récepteur cellulaire particulier. On peut ainsi concevoir un organisme vivant comme un réactif biologique sur lequel chaque ion métallique peut manifester et révéler sa toxicité intrinsèque, conditionnée elle-même par les caractères physico-chimiques de l'ion.

Parmi les caractères de base liés à la réactivité chimique d'un élément, deux sont fondamentaux, le numéro atomique (Z) et l'électronégativité (x).

Nous avons porté sur un graphique les $DL_{50}/30$ obtenues avec les différents éléments étudiés en fonction de leur numéro atomique (fig. 29). D'après cette figure il ne semble pas, à première vue, exister une relation évidente entre la toxicité des ions et leur numéro atomique, du moins sous la forme d'une relation linéaire *. On doit noter toutefois que, dans la seule série homogène que nous possédions, celle de la première série des éléments de transition (de l'ion chromique à l'ion cuivrique), on peut observer une relation de proportionnalité entre la toxicité des ions métalliques et leur numéro atomique (fig. 30).

Quant à l'électronégativité, elle correspond particulièrement bien au type de grandeur susceptible d'être comparée à la toxicité en ce sens qu'elle fournit une échelle numérique de la réactivité des éléments, quel que soit le type de réaction chimique envisagé .

---

* Le problème d'une éventuelle relation de type périodique fait l'objet d'un travail qui est actuellement en cours à la Division de Chimie et de Pharmacologie du Centre de Recherches du Service de Santé des Armées.

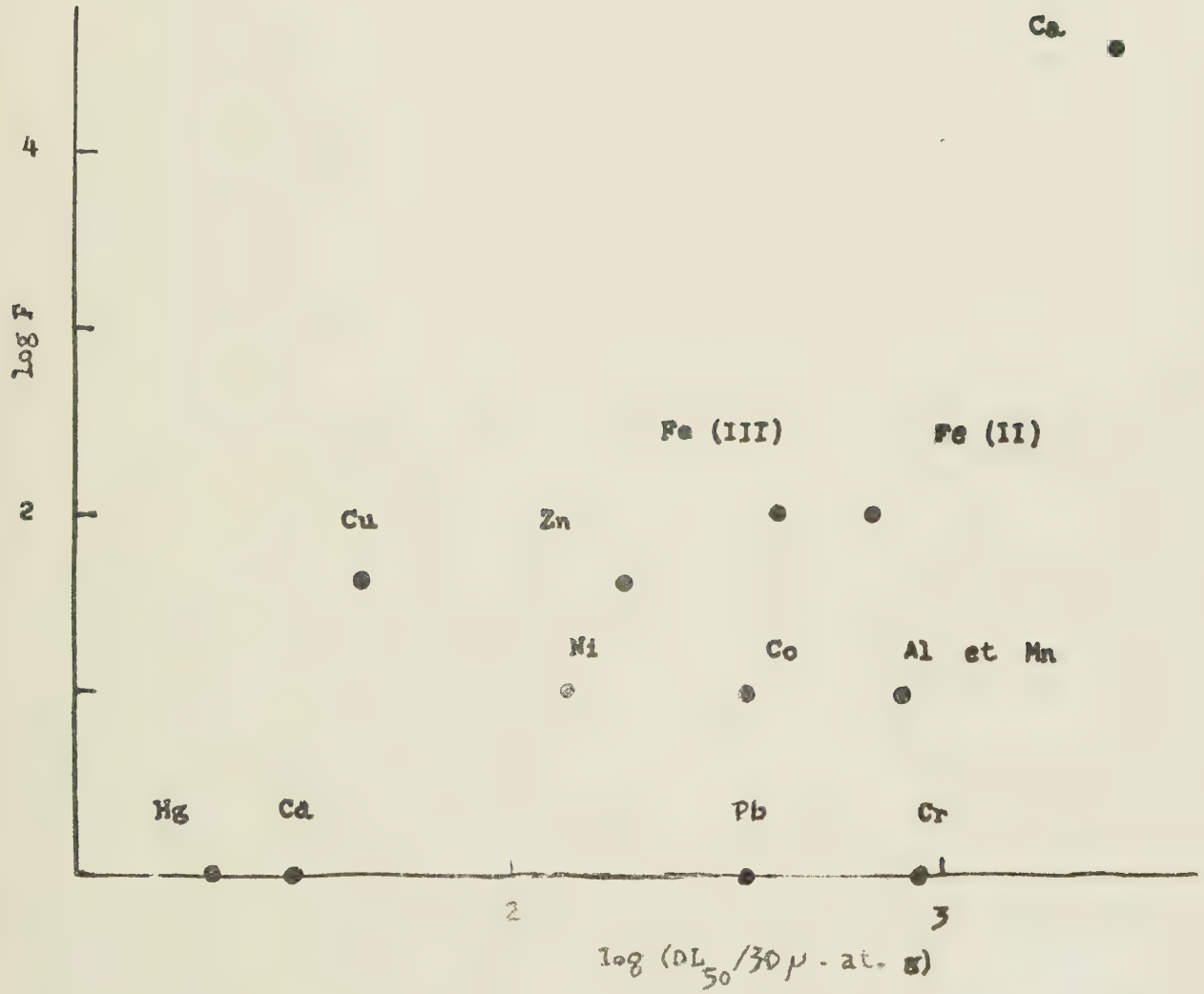


Figure 28 . Comparaison entre la toxicité des ions métalliques et la fréquence relative des éléments dans la croûte terrestre F .

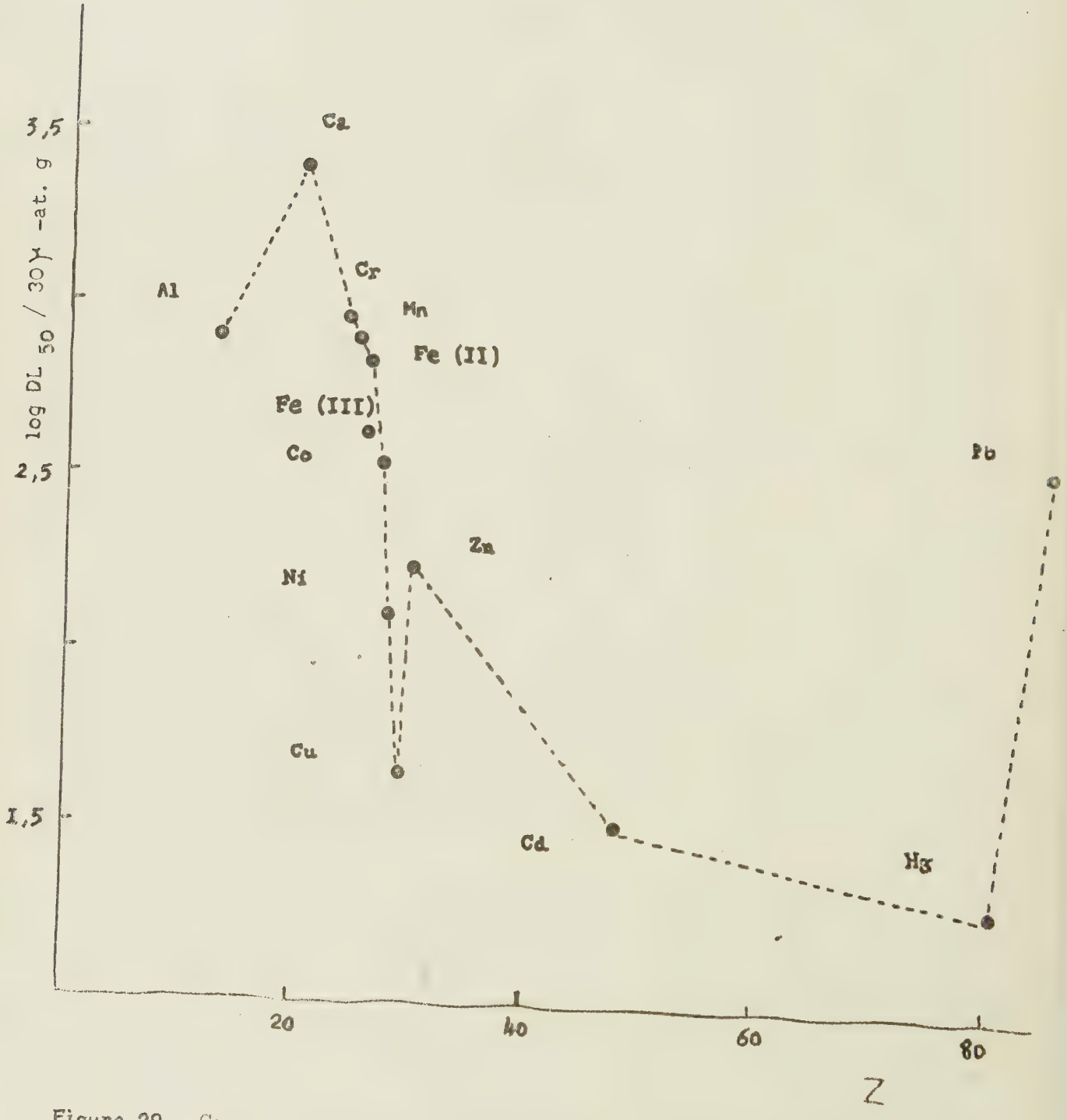


Figure 29 . Comparaison entre la toxicité des ions métalliques et le numéro atomique Z .

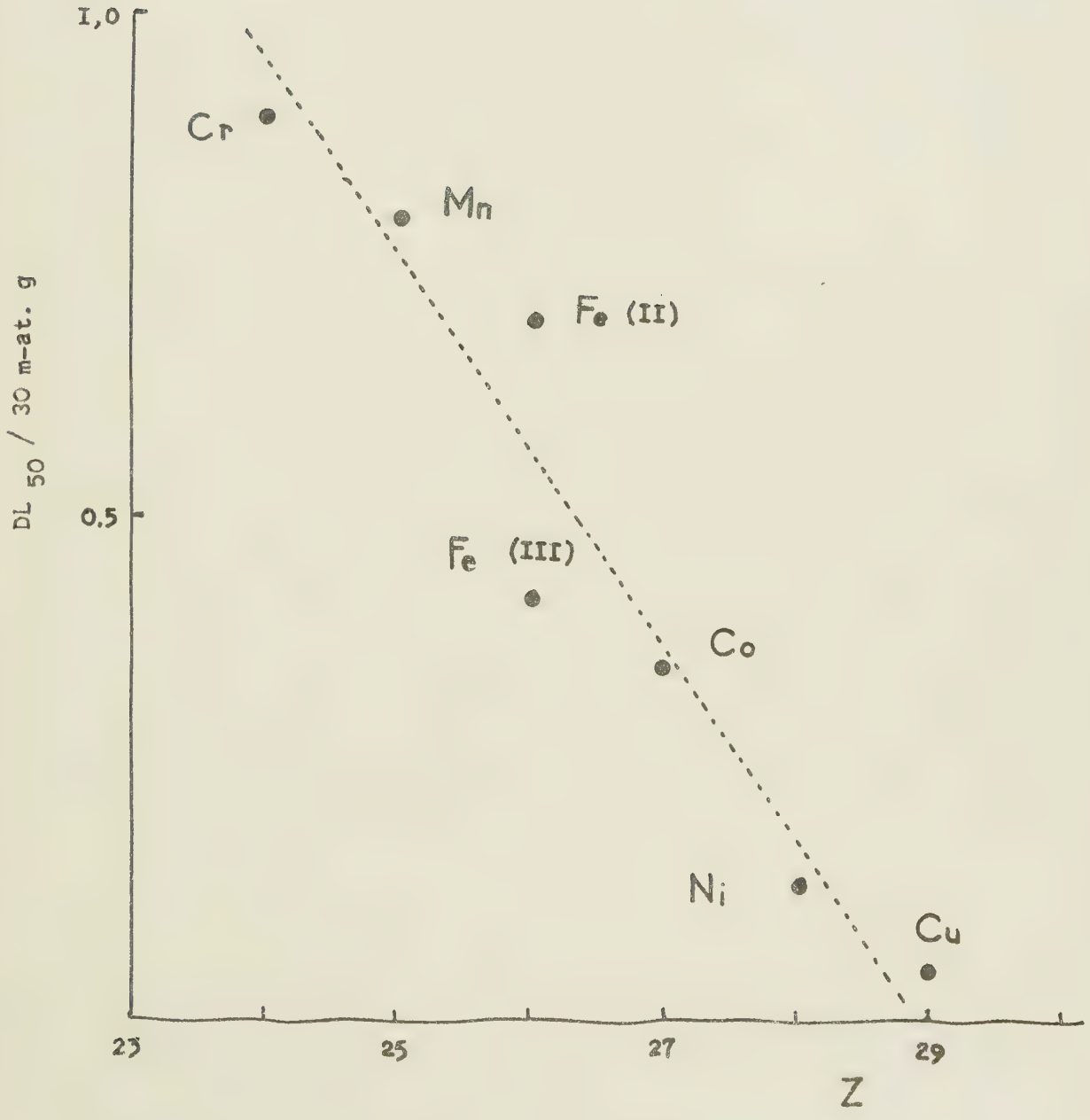


Figure 30 . Comparaison entre le numéro atomique et la toxicité pour les ions métalliques de la première série des éléments de transition.

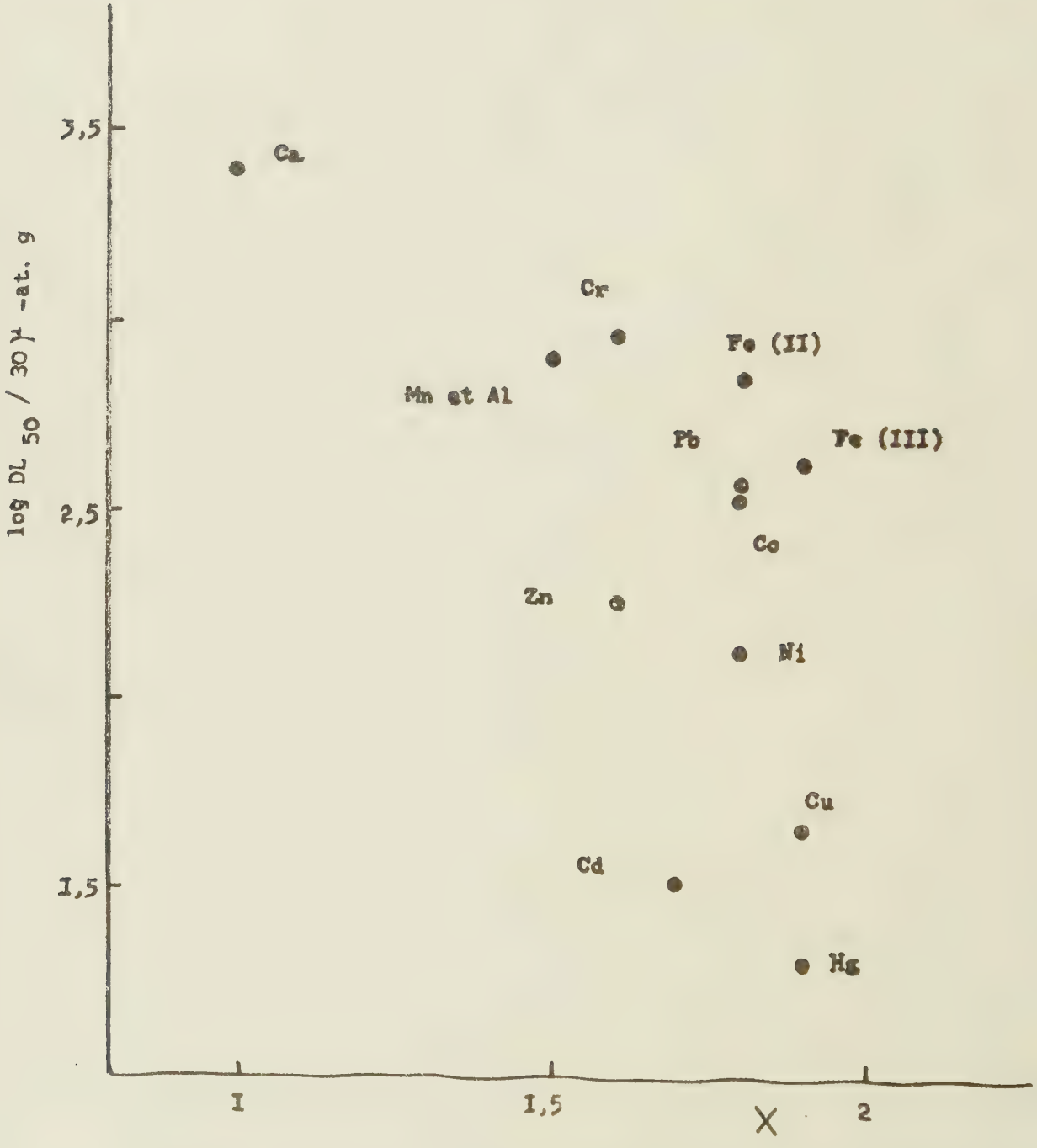


Figure 3I . Comparaison entre la toxicité des ions métalliques et l'électronégativité X : valeurs de PAULING (95) .

Le graphique de la figure 3I permet de voir qu'il n'y a pas entre la toxicité et l'électronégativité le rapport que l'on pouvait espérer trouver ; il ne se révèle pas en particulier sur ce graphique de relation exponentielle comparable à celle qui a été mise en évidence par DANIELLI (30) ou par SOMERS (134) (136) sur des spores de champignons. Il est cependant possible de noter certaines corrélations. C'est ainsi que les ions Hg (II) et Cu (II) qui sont les éléments les plus toxiques présentent, les électronégativités les plus élevées, les ions Ca (II), Mn (II), Al (III), éléments peu toxiques, les électronégativités les plus faibles.

Les relations existant éventuellement, entre la toxicité des ions et leurs propriétés physico-chimiques ont été recherchées par voie graphique ; dans ces conditions une relation simple peut seule se révéler. Le fait que les points ne se répartissent pas selon une courbe définie ne signifie pas qu'il n'existe aucune fonction mathématique entre les deux grandeurs ; une fonction dépendant de nombreux paramètres ou une fonction non continue ne peuvent être mises en évidence avec un nombre de points réduit. Il serait donc prématuré, avec le faible nombre de métaux étudiés, de tirer des conclusions générales sur le mécanisme de la toxicité des ions métalliques.

II - 3 - 2 -- 2 - Mécanisme de l'activité toxique des chélates

a - Cas particulier de l'EDTA sodique :

La toxicité du sel disodique de l'EDTA, l'agent chélateur lui-même, n'a été déterminée qu'à titre comparatif. Sa $DL_{50}/30$, exprimée en m.mole, est égale à 0,80 ($\pm$ 0,04). Sa toxicité est donc, environ 17,9 fois plus importante que celle de l'EDTA calcique. Cette forte toxicité du sel de sodium de l'EDTA est bien connue (103) et est expliquée par la chélation du calcium ionisé du sérum provoquant une tétanie calciprive (114). L'organisme lutte contre l'abaissement du calcium sérique libre en mobilisant ses réserves calciques ; la diminution du calcium dépend donc de deux phénomènes antagonistes, l'un par l'action chélatrice de l'EDTA, l'autre par un mécanisme physiologique qui tend à neutraliser cette action. Ainsi s'explique la toxicité variable de l'EDTA suivant la vitesse d'injection ; lors d'une introduction lente, la dose supportée est beaucoup plus importante (103)* et l'emploi de l'EDTA sodique a pu être envisagé dans le traitement de calcinoses (53), (61), (104), (137).

---

* Nous devons préciser ici que la $DL_{50}/30$ que nous avons déterminée a été réalisée par injection intrapéritonéale rapide.

b - Dissociation et toxicité :

Il doit être souligné en premier lieu, que la toxicité des chélates ne peut être attribuée à la destruction de la molécule d'EDTA dans l'organisme. Il a été montré en effet que l'EDTA n'est pas métabolisé in vivo (39) (40).

On doit donc considérer la toxicité d'un chélate à l'EDTA comme un caractère propre à ce composé, étroitement dépendant de ses propriétés physico-chimiques.

Une des propriétés essentielles des chélates est leur possibilité de dissociation. En supposant et ceci est très probable que leur dissociation soit lente, l'EDTA libéré doit chélater le calcium sans provoquer de troubles de la calcémie. La toxicité du chélateur libéré sera donc celle du chélate calcique. Or, les doses de chélateur introduites sous forme de chélate ont été, dans tous les cas, très inférieures aux doses nécessaires pour que la toxicité de l'EDTA calcique puisse se manifester. On peut donc négliger semble-t-il la toxicité du chélateur éventuellement libéré en tant que facteur de toxicité du chélate.

Deux hypothèses sont dès lors possibles, ou le chélate possède une toxicité propre, intrinsèque, ou bien il n'est pas toxique par lui-même et la toxicité constatée provient du métal libéré à l'état ionisé par dissociation. La plupart des études portant sur la toxicité des chélates se basent sur cette seconde éventualité et ce problème se pose surtout pour les auteurs qui étudient l'élimination des métaux radio-actifs par les agents chélateurs (118) (119). Si cette hypothèse permet d'expliquer la toxicité des chélates moins ou à la rigueur aussi toxiques que l'ion, elle n'explique évidemment pas la toxicité des chélates plus toxiques.

Parmi les nombreux arguments qui ont été avancés pour expliquer la dissociation des chélates dans l'organisme (56), nous ne retiendrons que ceux qui envisagent un mécanisme de compétition, soit des chélateurs de l'organisme vis-à-vis de l'EDTA, soit des métaux physiologiques vis-à-vis du métal chélaté.

De nombreuses molécules de l'organisme peuvent en effet jouer un rôle de chélateur, protéines, amino-acides, acides hydroxylés, anions minéraux, etc (1). Les constantes de stabilité des chélates donnés par ces substances sont toutefois inférieures à celles des chélates de l'EDTA. Cependant, étant donné leur concentration élevée, la compétition de ces chélateurs peut ne pas être négligeable. En effet, si l'on considère les relations suivantes* :

$$(M\,Y) = K\,(M)\,\,(Y)$$
$$(M\,Y') = K'\,(M)\,(Y')$$

---

* M, Y, Y' représentent le métal, le chélateur exogène, le chélateur antagoniste, K et K', les valeurs respectives des constantes de stabilité des deux chélates.

soit :

$$\frac{(M\,Y)}{(M\,Y')} = \frac{K}{K'} \cdot \frac{Y}{Y'}$$

on en déduit que le rapport des concentrations des deux chélates dépend non seulement du rapport des constantes de stabilité, mais aussi du rapport des concentrations des formes libres des deux chélateurs. Dans l'organisme, le taux des chélateurs physiologiques est certainement plus élevé que celui de l'EDTA, on ne saurait, en conséquence, mésestimer leur importance en dépit de leur stabilité relativement faible.

Une autre compétition peut être envisagée, celle des métaux de l'organisme et notamment du calcium, vis-à-vis du métal chélaté.

L'importance de ce facteur peut être théoriquement mise en évidence en considérant les relations * traduisant les équilibres respectifs qui existent en solution entre les concentrations de l'EDTA, du métal, et du calcium:

$$(M\,Y) = K_M\ (M)\ (Y)$$

$$(Ca\,Y) = K_{Ca}\ (Ca)\ (Y)$$

Si l'on admet avec HELLER (52) que (Ca) reste inchangé, le produit K_{Ca} (Ca) a une valeur constante que l'on peut désigner par A. Nous avons donc :

$$(Ca\,Y) = A\ (Y)$$

D'autre part la quantité d'EDTA qui n'est pas combinée avec le métal M est égale à la quantité de métal dissocié :

$$(Y) + A\ (Y) = (Y)\ (I + A) = (M)$$

soit :

$$(Y) = \frac{(M)}{I + A}$$

Ceci permet d'écrire :

$$(M\,Y) = \frac{K_M}{I + A}\ (M)^2$$

En ne tenant pas compte de la compétition du calcium, la relation équivalente serait :

$$(MY) = K_M\ (M)^2.$$

---

* Ca et K_{Ca} désignent le calcium ionisé sérique et la constante de stabilité du chélate calcique.

Si la fraction de métal susceptible de se trouver dissociée est responsable de la toxicité du chélate celle-ci devrait être d'autant plus faible que la constante de dissociation de la forme chélatée serait plus élevée.

Nous avons porté sur un graphique, les valeurs des $DL_{50}/30$ des chélates par rapport aux logarithmes de leur constante de stabilité (fig. 32).

Ce graphique révèle qu'il n'existe pas de relation entre ces deux valeurs. Ainsi, les chélates les moins toxiques sont aussi les moins stables. Des chélates très stables tels que ceux de cuivre, de mercure, de nickel, de fer n'en sont pas moins très toxiques. Ce sont les chélates de plomb et de chrome qui correspondent le mieux à la relation attendue, leur stabilité importante allant de pair avec une toxicité relativement faible. Au contraire, le chélate calcique paraît à première vue tout à fait aberrant ; il est en effet très peu toxique tout en étant le moins stable, mais il ne faut pas oublier, que sa dissociation conduit, en raison de la teneur en calcium des liquides biologiques, à un équilibre entre les deux formes ionisée et chélatée.

Enfin, pour les chélates de cuivre, de mercure, de fer, d'aluminium, on pouvait prévoir à priori, que leur toxicité ne pouvait dépendre de leur constante de stabilité.

L'absence d'une relation entre cette dernière et la toxicité du chélate peut s'expliquer en considérant que non seulement la quantité d'ion métallique libéré mais aussi la toxicité propre de l'ion entrent en jeu. La toxicité de l'ion serait alors le facteur essentiel de la toxicité du chélate et il nous a paru intéressant de comparer graphiquement les toxicités des chélates et des ions correspondants (figure 33).

Nous avons divisé ce graphique en deux régions, de part et d'autre de la bissectrice. Sur cette droite elle-même, se retrouvent les ions ne subissant aucune détoxication par chélation : Fe (II) et (III). Dans la région située à sa gauche, se retrouvent les métaux dont le chélate est plus toxique que l'ion chélaté : Hg (II), Cu (II), Al (III). Enfin dans la région de droite se retrouvent les ions métalliques dont la toxicité est diminuée par chélation. Dans la plupart des cas on voit (fig. 34), qu'il existe une relation de proportionnalité entre la toxicité de l'ion et celle du chélate et l'on peut en déduire que les toxicités des ions et de leur chélate vont assez souvent de pair. Cette règle souffre évidemment de nombreuses exceptions ; parmi les métaux étudiés nous avons vu que le mercure, le cuivre, le fer et l'aluminium présentent une toxicité qui n'est pas modifiée par leur chélation à l'EDTA en dépit de la stabilité des chélates. Les problèmes posés par ces métaux sont étudiés dans le paragraphe suivant.

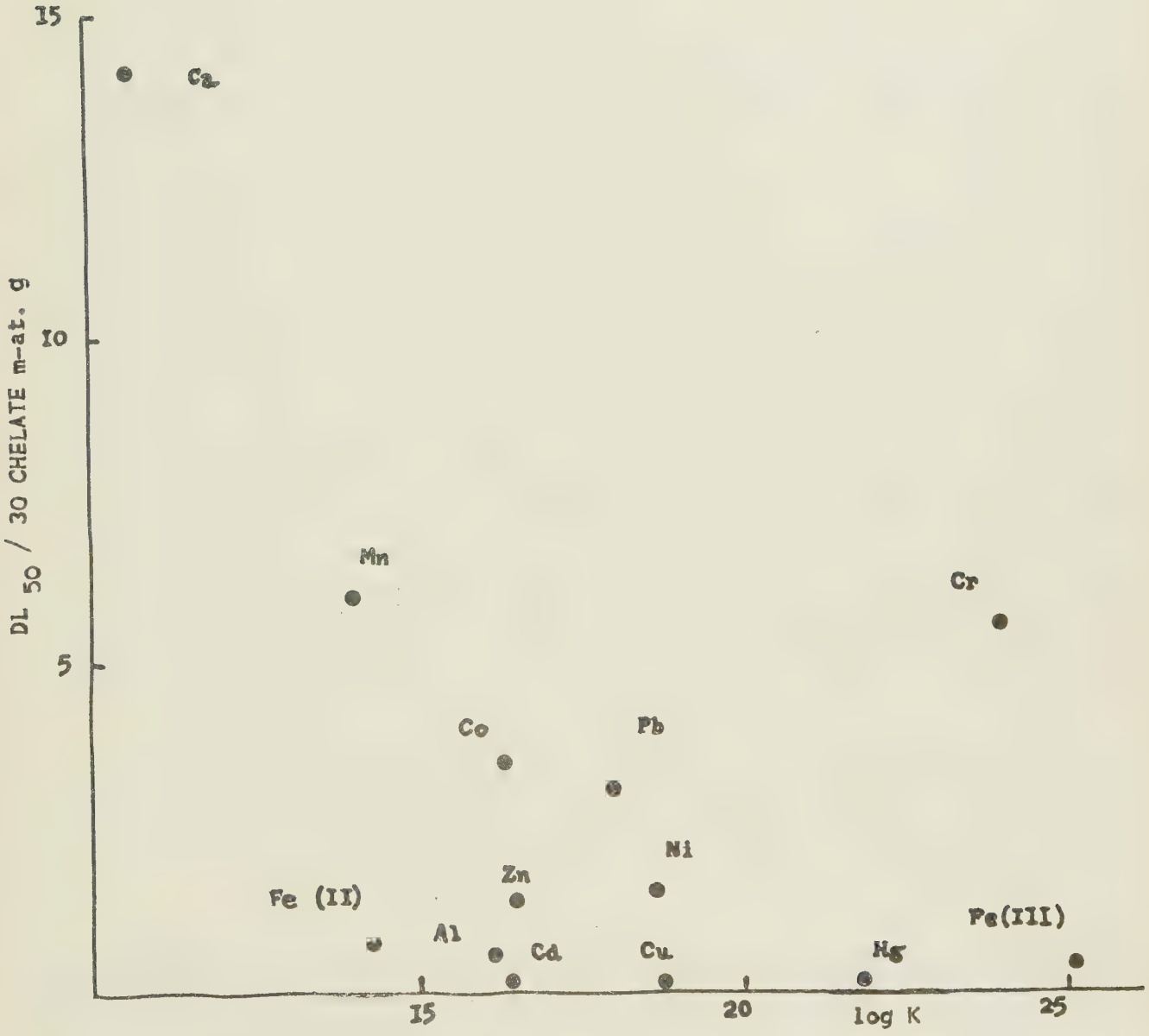


Figure 32 . Comparaison entre la stabilité des chélates et leur toxicité .
log K : logarithme de la constante de stabilité .

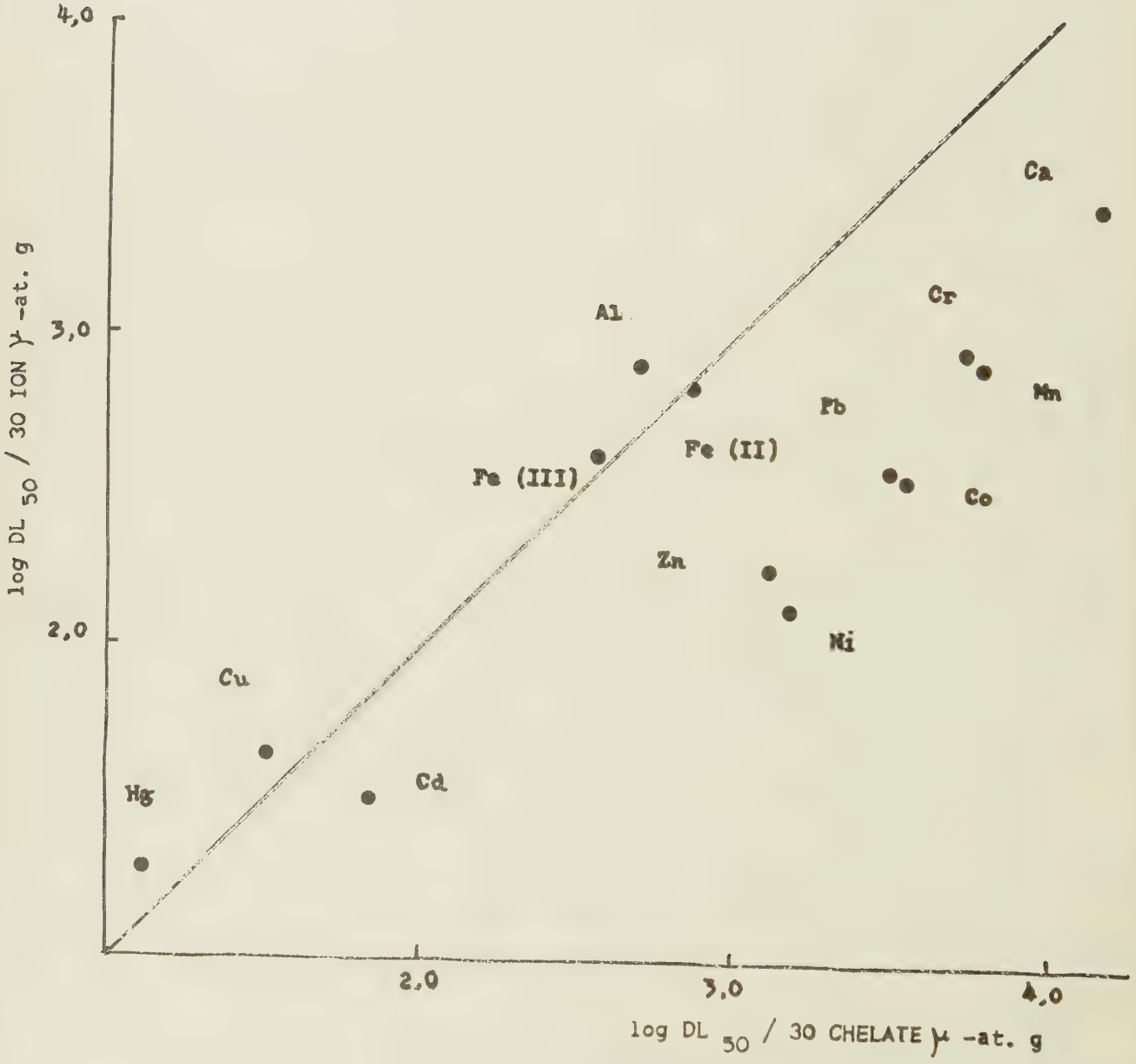


Figure 33 . Comparaison entre la toxicité des ions et des chélates .

c - Etude de quelques cas particuliers

Sur le graphique 34, la droite traduisant le rapport entre les toxicités des ions et des chélates permet d'attribuer au fer et à l'aluminium chélatés des toxicités "théoriques", comparées aux valeurs expérimentales dans le tableau suivant (tableau X).

TABLEAU X

CHELATES	$DL_{50}/30$ THEORIQUES I	$DL_{50}/30$ EXPERIMENTALES 2	$R = \frac{I}{2}$
Al EDTA	5,8	0,54	IO,7
Fe (II) EDTA	5,I	0,72	7,0
Fe (III) EDTA	3,I	0,38	8,I

Comparaison entre les toxicités "théoriques" et expérimentales des chélates d'aluminium et de fer.

Ainsi la toxicité de l'aluminium chélaté à l'EDTA est beaucoup plus importante (plus de IO fois la valeur attendue) que ne le laisseraient prévoir le caractère peu toxique de l'ion métallique libre et la stabilité relativement grande du chélate (log K = 16). Ces résultats s'expliquent cependant si l'on tient compte d'une part de l'hydrolyse des sels d'aluminium à un pH voisin de la neutralité et de la précipitation du métal à l'état d'alumine insoluble, d'autre part de la formation d'un chélate soluble, stable à pH neutre et aisément diffusible, capable d'atteindre rapidement de nombreux compartiments et tissus de l'organisme. Nous avons déjà signalé l'existence d'un tel mécanisme (chapitre I) à propos des sels de cérium.

Ce même problème a été étudié par BADINAND et coll. (4) en ce qui concerne la diffusion du chélate de bismuth. S'il n'a pas été observé de différences significatives entre l'EDTA bismuth et un autre complexe bismuthique, l'émétique de bismuth, les résultats obtenus paraissent cependant très différents de ceux signalés par d'autres auteurs à propos des sels de ce métal.

La toxicité propre des chélates cuivrique et mercurique peut s'expliquer peut-être par le fait que les métaux chélatés sont susceptibles d'être réduits à leur valence minimum, conduisant à des chélates instables libérant aisément l'élément métallique auquel on peut rapporter en définitive les phénomènes toxiques observés, à l'appui de cette hypothèse il faut noter qu'un agent réducteur tel que l'acide ascorbique aboutit, in vitro, à la destruction des chélates cuivrique et mercurique en solution aqueuse (résultats non publiés).

Nous avons souligné que l'EDTA ferreux a une toxicité qui est environ sept fois supérieure à celle qu'il devrait présenter théoriquement. Ce phénomène peut être expliqué par une activité radio-mimétique de ce chélate, comme nous l'avons établi en nous appuyant sur des critères d'ordre tant

En effet, il a été montré (86) que l'EDTA ferreux, chélate autoxydable, peut catalyser la formation, in vitro, du radical libre hydroxyle, par suite d'une activation de l'oxygène moléculaire dissout, conformément aux réactions suivantes :

$$O_2 + Fe\ (II)\ EDTA \xrightarrow{2\ H^+} Fe\ (III)\ EDTA + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + Fe\ (II)\ EDTA \longrightarrow Fe\ (III)\ EDTA + OH^- + OH.$$

La formation du radical hydroxyle n'est pas inhibée par la catalase ce qui peut être expliqué sans doute par la vitesse élevée de la réaction entre le peroxyde d'hydrogène et le chélate ferreux (86). Il est ainsi concevable qu'un tel mécanisme puisse jouer in vivo.

Il est vrai que l'ion ferreux non chélaté peut également induire, in vitro, la formation du radical hydroxyle à partir de l'oxygène moléculaire, mais son activité est toutefois très inférieure (plus de deux fois) à l'activité respective de son chélate (86). Par ailleurs, in vivo, l'ion ferreux injecté doit être capté par diverses protéines, la sidérophiline en particulier, ce qui doit avoir pour effet d'inhiber ses propriétés catalytiques ; on sait, en revanche, que la sidérophiline ne déplace pas le fer quand il est chélaté par l'EDTA (112) (113). Quant aux autres métaux, à deux états de valence possibles, appartenant à la première série des éléments de transition, comme le manganèse, le cobalt et le cuivre, ils se révèlent inaptes, in vitro, aussi bien sous leur forme saline que chélatée, à promouvoir la genèse du radical libre hydroxyle (86).

De ce fait, parmi les différents dérivés métalliques que nous avons étudiés, seuls l'EDTA ferreux et l'EDTA ferrique, qui est transformé en son dérivé ferreux par les réducteurs biologiques, sont susceptibles de réaliser in vivo une activation de l'oxygène avec libération du radical hydroxyle. C'est probablement par ce mécanisme que peut être expliquée la forte toxicité des chélates de fer.

Nous ne reviendrons pas ici sur les effets biologiques du radical libre hydroxyle, qui ont été développés ailleurs (89) ; nous rappellerons simplement qu'on attribue à ce radical l'action biologique des radiations ionisantes par effet indirect, ce qui rend compte de l'activité radiomimétique du fer chélaté.

Ainsi, la chélation d'un ion métallique in vivo ne se traduit pas toujours par une diminution de toxicité et, il semble que les manifestations qui révèlent le phénomène, le plus souvent une élimination urinaire accrue du métal, ne doivent pas être considérées comme des preuves de la détoxication de l'élément. Un chélate métallique n'est pas une forme chimiquement inerte et des phénomènes toxiques, parfois différés, peuvent être la conséquence de son introduction, ou de sa formation dans l'organisme.

Figure 34 . Comparaison entre la toxicité des ions et des chélates .

C O N C L U S I O N S

L'étude de la toxicité comparée chez la souris de quelques ions métalliques et de leur chélate à l'acide éthylènediamine tétracétique (EDTA, chélates I:I) nous a amené à préciser un protocole expérimental basé sur la détermination de la DL_{50} au trentième jour ($DL_{50}/30$).

Les résultats expérimentaux obtenus nous ont permis de sérier les métaux étudiés en des groupes distincts compte tenu :

- de la rapidité avec laquelle s'observent les manifestations toxiques qu'ils provoquent.

- du pouvoir détoxicant de l'agent chélateur.

Aucune relation ne paraît relier les deux phénomènes ; par contre il semble possible dans la série limitée des premiers éléments de transition de rattacher la toxicité des ions métalliques et de leur chélate à certaines de leurs propriétés physico-chimiques.

Parmi les douze éléments métalliques que nous avons étudiés, nous avons montré qu'il en existe huit (Ca, Cr, Mn, Co, Ni, Zn, Cd, Pb) dont les ions ont une toxicité significativement diminuée par chélation à l'EDTA.

Les chélates de mercure, d'aluminium, de cuivre et de fer sont au moins aussi toxiques, sinon davantage, que les ions correspondants.

Les mécanismes possibles d'une telle activité biologique ont été discutés ; la toxicité particulièrement élevée du chélate ferreux doit être rapportée à l'activité biologique propre de l'EDTA ferreux doué de propriétés radiomimétiques in vivo.

Le Président de la Thèse :

B. DREVON

VU et permis d'imprimer

LYON, le 24 MAI 1962

VU, le Doyen :

M.H. HERMANN

Le Recteur, Président du
Conseil de l'Université,

P. LOUIS

BIBLIOGRAPHIE

I - ALBERT, A., Quantitative studies of the avidity of naturally occuring substances for trace metals, Biochem. J., I950, 47, 53I.

2 - ALBERT, A., Selective Toxicity, I960, John Wiley and sons ed., New York.

3 - ASTAKHOV, K., KISELEVA, E., Some inner complex compounds of elements of group II and their solubilities, Zhur. Obshchei Khim., I950, 20, I780.

4 - BADINAND, A., QUINCY, C., Etude expérimentale du bismuth administré sous forme de chélate, Thérapie, I959, I4, 888.

5 - BAUER, R., RULLO, F., SPOONER, C., WOODMAN, E., Acute and subacute toxicity of ethylenediamine tetraacetic salts, Federation Proc., I952, II, 32I.

6 - BEHRENS, B., Zur auswertung der digitalisblätter im froschversuch, Arch. Exp. Pathol. Pharmokol., I929, I40, 237.

7 - BLATTNER, R., Chelating agents in treatment of hepatolenticular degeneration, J. Pediat., I958, 52, 758.

8 - BLISS, C.I., The determination of the dosage-mortality curve from small numbers, Quart. J. Pharm. Pharmacol., I938, II, I92.

9 - BLISS, C.I., The calculation of the dosage-mortality curve, Ann. Appl. Biol., I953, 22, I34.

IO - BONATI, F., Azione di derivati della ditioetiletilenediamina sulla tossicità del mercurio, Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., I958, 34, I660.

II - BONET MAURY, P., Mesure de la toxicité à l'aide d'un papier logarithme-probit, Compt. Rend. Soc. Biol., I943, I37, I00.

I2 - BOULET, P., MIROUZE, J., BARJON, P., Agents chélateurs et détoxication métallique, Thérapie, I958, I3, 998.

I3 - BOYLE, A.J., JASPER, J., Mc CORMICK, H., KOSAI, M., CANN, D., GOODWIN, J., CLARKE, N., MOSHER, R., Studies in human and induced atherosclerosis employing ethylenediamine tetraacetic acid, Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss., I957, I3, 408.

I4 - BRENDEL, R., SWAYNE, V., PRESTO, R., BEILER, J.M., MARTIN, G., Biological effects of salts of ethylenediamine tetraacetic acid, J. Am. Pharm. Assoc., I953, 42, I23.

I5 - BREUIL, L., Contribution à l'étude de l'action thérapeutique des agents chélateurs dans diverses surcharges métalliques et métalloïdiques, I957, Thèse méd., Montpellier.

I6 - BRIEGER, H., Chelating agents in the prevention and treatment of occupational deseases, Arch. Environmental Health, I960, I, 27I.

I7 - BRUGSH, H., Fatal nephropathy during EDTA therapy in lead poisoning, Arch. Ind. Health, I959, 20, 285.

I8 - CANDURA, F., CANDURA, M., VILLA, T., EZECHIELLI, S., L'eliminazione urinaria e fecale del zinco durante trattamento con etilenediaminotetraacetato calcio-disodico, Lavoro Umano, I960, I2, 402.

I9 - CATSCH, A., LE, D.K., Removal of internally deposited radiocerium by the use of chelating agents, Nature, I957, I80, 609.

20 - CAUJOLLE, F., MEYNIER, D., L'indice d'agressivité (DL_{50} limite), Bull. Acad. Nat. Méd., I957, I4I, 362.

2I - CAUJOLLE, F., MEYNIER, D., Sur la toxicité du cobalt, Rev. Pathol. Gén. Physiol. Clin., I959, 59, 245.

22 - CHABEREK, S., BERSWORTH, F., New chelating agents for trivalent iron, Science, I953, II8, 280.

23 - CHABEREK, S., MARTELL, A.E., Organic sequestring agents, I959, John Wiley and sons, New York.

24 - CHENOWETH, M.B., Chelation as a mechanism of pharmacological action, Pharmacol. Rev., I956, 8, 57.

25 - CONNOR, J., Sequestration and its application, Am. J. Pharm., I960, I32, 325.

26 - COTTER, L., Treatment of lead poisoning by chelation, J. Am. Med. Assoc., I954, I55, 206.

27 - COTTER, L., Treatment of Cd poisoning with Ca Na_2 EDTA, J. Am. Med. Assoc., I958, I66, 735.

28 - CRISMER, R., DURIEUX, M., DREZE, C., DUBOIS, J., Action de l'acide éthylènediamine tétracétique calcique sur les taux du fer sérique et du fer urinaire dans deux cas d'hémochromatoses idiopathiques, Acta Gastroentéro., I958, 2I, 704.

29 - CURRAN, G.L., Metal chelating agents and hepatic cholesterol synthesis, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., I955, 88, I0I.

30 - DANIELLI, J.F., DAVIES, J., Reactions at interfaces in relation to biological problems, Advances in enzymol., I95I, II, 35.

3I - DECKER, C., A study of the distribution and retention of Cd ^{II5} in the albino rat, Arch. Biochem. Biophys., I957, 66, I40.

32 - DRAGSTEDT, C., LANG, V., Respiratory stimulants in acute cocaine poisoning in rabbits, J. Pharmacol. Exp. Therap., I928, 32, 2I5.

33 - DUFRENOY, J., Réactions hématologiques du rat au cobalt, Rev. Pathol. Physiol. Clin., I959, 59, 45I.

34 - DUGOIS M.M.P., COLOMB, L., Traitement d'une dermite au chrome par l'EDTA calcique, Lyon Méd., I957, 22, 540.

35 - DUMAS, J., Les animaux de laboratoire, I953, Flammarion, Paris.

36 - EYBL, V., SYKORA, J., KOCHER, Z., Der einflub von EDTA auf die Auswirkungen von Kobalt in vivo, Arch. Exp. Pathol. Pharmakol., I959, 236, I99.

37 - FIGHEROA, W., ADAMS, W., DAVIS, F., BASSETT, S., A study of the effect of disodium calcium versenate on iron excretion in man, J. Lab. Clin. Med., I955, 46, 535.

38 - FOREMAN, H., Use of chelating agents for accelerating excretion of radioelements J. Am. Pharm. Assoc., I953, 42, 629.

39 - FOREMAN, H., VIER, M., MAGEE, M., Metabolism of C^{I4} labelled ethylene-diaminetetraacetic acid in the rat, J. Biol. Chem., I953, 203, I045.

40 - FOREMAN, H., TRUJILLO, T.T., Metabolism of C^{I4} labelled ethylenediamine-tetraacetic acid in human beings, J. Lab. Clin. Med., I954, 43, 566.

4I - FOREMAN, H., FINNEGAN, C., LUSHBAUGH, C.C., Nephrotoxic hazard from incontrolled edathamil calcium disodium therapy, J. Am. Med. Assoc., I956, I60, I042.

42 - FOREMAN, H., The pharmacology of some useful chelating agents, Metal-binding in Medecine, I959, Seven and Johnson, Philadelphie, p. 82.

43 - FOYE, W.O., Role of metal-binding in the biological activities of drugs, J. Pharm. Sciences, I96I, 50, 93.

44 - FRIBERG, L., Edathamil calcium disodium in cadmium poisoning, Arch. Ind. Health, I956, I3, I8.

45 - FRIED, J.F., ROSENTHAL, M.W., SCHUBERT, J., Induced accumulation of citrate in therapy of experimental lead poisoning, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., I956, 92, 33I.

46 - FRIED, J.F., GROVE, E.H., SCHUBERT, J., WESTFALL, W.M., Superior chelating agents for the treatment of plutonium poisoning, Atompraxis, I959, 5, I.

47 - FRIED, J.F., LINDENBAUM, A., SCHUBERT, J., Comparison of three chelating agents in treatment of experimental manganese poisoning, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., I959, I00, 570.

48 - GADDUM, J., Reports on biological standards III - Methods of biological assay depending on a quantal response, Med. Research Concil special report series, I933, I83, I.
GADDUM, J., Bioassays and mathematics, Pharmacol. Rev., I953, 5, 87.

49 - GIRARD, M., Indications thérapeutiques dans les cirrhoses non alcooliques, J. Méd. Lyon, I958, I99, 4I5.

50 - GREVISSE, J., Applications thérapeutiques des sels de l'acide éthylènediamine tétracétique, Rev. Méd. Liège, I960, I5, I25.

5I - HAMM, R., Complex ions of chromium, IV. The ethylenediaminetetraacetic acid complex with chromium (III), J. Am. Chem. Soc., I953, 75, 5670.

52 - HELLER, H.J., CATSCH, A., Einige physikalisch-chemische uberlegungen zur dekorporation radiaktiver metalle durch Komplexbildner, Strahlentherapie, I959, I09, 464.

53 - HOLLAND, J.F., DANIELSON, E., SAHAGIAN, A., Use of EDTA in hypercalcemic patients, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., I953, 84, 359.

54 - HOLLISTER, L., CULL, V., GONDA, V., KOLB, F., Hepatolenticular degeneration, A. J. Med., I960, 28, 623.

55 - IRVING, H., WILLIAMS, R., Stability of transition metal complexes, J. Chem. Soc., I953, p. 3I92.

56 - JOHNSON, L., SEVEN, M., Observations on the in vivo stability of metal chelates, Metal-binding in Medecine, I959, Seven and Johnson, Philadelphie, p. 225.

57 - JONES, J.R.E., The relation between the electrolytic solution pressures of the metals and their toxicity to the stickleback, J. Exp. Biol., I939, I6, 425.

58 - JONES, J.R.E., A further study of the relation between toxicity and solution pressure with Polycelis nigra as test animal, J. Exp. Biol., I940, I7, 408.

59 - KARBER, G., Beitrag zur kollektiven behandlung pharmakologischer reihenversuche, Arch. Exp. Pathol, Pharmakol., I93I, I62, 480.

60 - KETY, S., LETONOFF, T., Treatment of lead poisoning with sodium citrate, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., I94I, 46, 476.

6I - KLEIN, R., HARRIS, S., Treatment of sclerodermia, sclerodactylia and calcinosis by chelation, Am. J. Med., I955, I9, 798.

62 - KLOTZ, H., AXRIL, J., PARIENTE, R., DREUX, C., Etude de l'élimination du fer par un chélateur dans une hémochromatose, Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp., I956, 72, 724.

63 - KOCHER, Z., EYBL, V., SYKORA, J., Der einfluss von $Ca\ Na_2$ EDTA auf die experimentelle metallvergiftung. III, Mitteilung : der einfluss von $Ca\ Na_2$ EDTA bei der experimentellen akuten vergiftung mit Cd laktat bei mäusen, Arch. Inter. Pharmacodynamie, I958, II5, I64.

64 - KOCHER, Z., EYBL, V., SYKORA, J., MAJER, V., Der einfluss von $Ca\ Na_2$ EDTA auf die experimentelle metallvergiftung. IV, Mitteilung : der einfluss von $Ca\ Na_2$ EDTA auf die experimentelle vergiftung mit $NiSO_4$, Arch. Inter. Pharmacodynamie, I959, I20, 80.

65 - KOSAI, M., BOYLE, A., Ethylenediaminetetraacetic acid in manganese poisoning of rats, Ind. Med. Surg., I956, 25, I.

66 - LAMACHE, A., BOUREL, M., VIVIEN, P., CORMIER, M., LENOIR, P., AZARD, C., DELAYE, D., L'emploi des agents chélateurs du type de l'EDTA calcique au cours de certaines hypersidérémies, Semaine Hôp., I957, 33, 295.

67 - LANGERON, L., PAGET, M., ROUTIER, G., Premier essai de traitement d'un diabète bronzé par les agents chélateurs, Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp., I956, 72, 9II.

68 - LAUNOY, L., Leçons sur la toxicité, I944, Baillière, Paris.

69 - LI, N., MANNING, R., Some metal complexes of sulfur-containing amino-acids, J. Am. Chem. Soc., I955, 77, 5225.

70 - LINDENBAUM, A., SCHUBERT, J., Sustained action of injected chelating agents, Nature, I960, I87, 575.

7I - LISCO, H., WHITE, M., The modification of beryllium induced tissue damage in mice by therapy with aurintricarboxylic acid, Brit. J. Exp. Pathol., I955, 36, 27.

72 - LITCHFIELD, J., FERTIG, J., On a graphic solution of the dosage-effect curve, Bull. Johns Hopkins Hosp., I94I, 69, 276.

73 - MALOOF, C., Use of edathamil calcium in treatment of chrome ulcers of the skin, Arch. Ind. Health, I955, II, I23.

74 - MARTELL, A., CALVIN, M., Chemistry of the metal chelate compounds, I956, Wendel Latimer ed., Englewood N.J.

75 - MARTY, J., LESTAGE, J., Sur l'aggravation d'une cirrhose bronzée après l'essai thérapeutique d'un chélateur, Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp., I958, 74, 59.

76 - MATHEWS, A., The relation between solution tension, atomic volume, and the physiological action of the elements, Am. J. Physiol., I904, I0, 290.

77 - MERVILLE, R., DEQUIDT,J., Contribution à l'étude de l'action détoxicante de l'éthylènediamine tétracétate de calcium dans l'intoxication expérimentale par les chromates, Hommage au Doyen René Fabre, I956, Sédès ed. Paris, p. 269.

78 - Metals and enzyme activity, Biochemical Society Symposia, I958, Crook ed. Cambridge.

79 - MILANI, C., Dosaggio polarografico del cobalto eleminato per via renale dopo introduzione di alcuni composti di cobalto, Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., I957, 33, 4I4.

80 - MILLAR, M., FISCHER, M., MAWSON, C., ELCOATE, P., Influence of ethylenediamine tetraacetic acid on the excretion of zinc by the rat, Nature, I954, I74, 88I.

81 - MILLER, L., TAINTER, M., Estimation of the ED 50 and its error by means of logarithm-probit graph paper, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1944, 57, 261.

82 - MORELL, V., Effets des sels de Ni sur le pancréas endocrine, Arch. Biol., 1958, 69, 519.

83 - MORRIS, H., The chronic toxicity of ingested lead and arsenic, J. Pharmacol. Exp. Therap., 1938, 63, 22.

84 - MURDOCK, H., KLOTZ, L., A pharmacologic evaluation of certain cobalt containing agents, J. Am. Pharm. Assoc., 1959, 48, 143.

85 - MURESAN, V., SIMIONOVICI, M., WINTER, D., MACARIE, I., Considérations sur l'organotropie rénale du Ca Na_2 EDTA, Thérapie, 1959, 14, 929.

86 - NOFRE, C., CIER, A., LEFIER, A., Activation de l'oxygène moléculaire en solution aqueuse par les ions métalliques et leurs chélates, Bull. Soc. Chim., 1961, p. 530.

87 - ODESCALCHI, C., SCUDIER, D., Alterazioni istologiche nell'intossicazione da cadmio senza e dopo trattamento con Ca Na_2 EDTA, Med. Lavoro, 1956, 47, 103.

88 - PAQUELIER, A., CIER, A., MOURIQUAND, C., CLEMENT, J.M., NOFRE, C., Effet radiomimétique de l'ion ferreux chélaté, Compt. Rend. Acad. Sci., 1961, 252, 1227.

89 - PAQUELIER, A., Contribution à l'étude du mécanisme d'action biologique des radiations ionisantes, 1961, Thèse Méd. Lyon.

90 - PASSOW, H., ROTHSTEIN, A., CLARKSON, T., The general pharmacology of the heavy metals, Pharmacol. Rev., 1961, 13, 185.

91 - PAULET, G., Valeur des sels organiques du cobalt dans le traitement de l'intoxication cyanhydrique, Compt. Rend. Soc. Biol., 1957, 151, 1932.

92 - PAULET, G., Intoxication cyanhydrique et chélates de cobalt, J. Physiol., 1958, 50, 438.

93 - PAULET, G., CHARY, R., BOCQUET, P., De l'antidotisme réciproque entre le cobalt et le groupement CN, Compt. Rend. Soc. Biol., 1959, 153, 1800.

94 - PAULET, G., Les chélates de cobalt dans le traitement de l'intoxication cyanhydrique, Path. Biol., 1960, 8, 255.

95 - PAULING, L., The nature of the chemical bond, 1960, Cornell, New York.

96 - PENALVER, R., Manganese poisoning, Ind. Med. Surg., 1956, 25, 190.

97 - PENALVER, R., Diagnosis and treatment of manganese intoxication, Arch. Ind. Health, 1957, 16, 64.

98 - PERRAULT, M., CLAVEL, B., La chélation, ses applications thérapeutiques, Rev. Path. Gen. Physiol. Clin., I958, 58, 5I9.

99 - PERRY, H., SCHROEDER, H., Lesions resembling vitamin B complex deficiency and urinary loss of zinc produced by EDTA, Amer. J. Med., I957, 22, I68.

I00 - PFEIFFER, P., Z. Anorg. Chem., I90I, 29, I07, d'après Martell (74).

I0I - PFEIFFER, P., Z. Anorg. Chem.,I907, 56, 26I.

I02 - PIRAT J., Métabolisme du fer et du cuivre. Action des chélateurs et possibilités thérapeutiques dans la maladie de Wilson et l'hémochromatose, Path. Biol., I96I, 9, II57.

I03 - POPOVICI, A., GESCHICKTER, C., REINOVSKY, A., RUBIN, M., Experimental control of serum calcium in vivo, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., I950, 74, 4I5.

I04 - RICHET, G., FRITEL, D., Intoxication par la vitamine D2 avec hypercalcémie considérable. Disparition immédiate des troubles cliniques et humoraux sous l'effet d'un agent chélateur, Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp., I957, 73, 36I.

I05 - RITTER, J., MARTI FECED, C., Essais et résultats du traitement des manganiques et de la prophylaxie de l'intoxication manganique par l'EDTA Ca, Arch. Mal. Profess., I960, 2I, II5.

I06 - ROCHE, L., BADINAND, A., LEJEUNE, E., Les chélateurs dans le saturnisme, Arch. Mal. Profess., I960, 2I, I.

I07 - RODIER, J., MALLET, R., RODI, L., Etude de l'action détoxicante de l'éthylène diamine tétracétate de calcium dans l'intoxication expérimentale par le manganèse, Arch. Mal. Profess., I954, I5, 2I0.

I08 - ROTHSTEIN, A., Cell menbrane as site of action of heavy metals, Federation Proc., I959, I8, I026.

I09 - ROTHSTEIN, A., ALASTER, D.,The metabolism of mercury in the rat studied by isotope techniques, J. Pharmacol. Exp. Therap., I960, I30, I66.

II0 - RUBIN, M., GIGNAC, S., BESSMAN, S., BELKNAP, E., Enhancement of lead excretion in humans by disodium calcium ethylenediamine tetraacetate, Science, I953, II7, 659.

III - RUBIN, M., DI CHIRO, G., Chelates as possible contrast media, Ann. N. Y. Acad. Sci., I959, 78, 764.

II2 - RUBIN, M., PRINCIOTTO, J., Synthetic amino-acid chelating agents and iron metabolism, Ann. N. Y. Acad. Sci., I960, 88, 450.

II3 - RUBIN, M., HOULIHAN, J., PRINCIOTTO, J., Chelation and iron metabolism, relative iron binding of chelating agents and siderophilin in serum, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., I960, I03, 663.

II4 - RUBIN, M., ALEXANDER, R., LINDENBLAD, G., Utilisation of synthetic chelates for study of calcium metabolism, Ann. N. Y. Acad. Sci., I960, 88, 474.

II5 - SALVINI, M., Efficacia del Ca Na_2 EDTA sulla eliminazione del piombo nella intossicazione sperimentale del coniglio, Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., I957, 33, 590.

II6 - SCHORMULLER, J., Rapport général sur l'inhibition enzymatique comme principe d'effets toxiques, I957, communiqué par le Service de la répression des fraudes, Paris.

II7 - SCHROEDER, H., A practical method for the reduction of plasma cholesterol in man, J. Chronic Diseases, I956, 4, 46I.

II8 - SCHUBERT, J., Removal of radioelements from the mammalian body, Ann. Rev. Nuclear Sci., I955, 5, 369.

II9 - SCHUBERT, J., Limitations of chelating agents for the treatment of acute radiostrontium poisoning, Atompraxis, I958, 4, 393.

I20 - SCHUBERT, J., ROSENTHAL, M., Chemical approches to the treatment of beryllium poisoning, Arch. Ind. Health, I959, I9, I69.

I2I - SCHWARZENBACH, G., ACKERMANN, H., RUCKSTUHL, P., Komplexone. Neue derivate der imino-diessigsaure und ihre erdalkalikomplexe, beziehungen zwischen aciditat und komplexbildung, Helv. Chim. Acta, I949, 32, II75.

I22 - SCHWARZENBACH, G., WILLI, A., Metallindikator, Helv. Chim. Acta, I95I, 34, 528.

I23 - SCHWARZENBACH, G., Der chelateffekt, Helv. Chim. Acta, I952, 35, 2344.

I24 - SCHWARZENBACH, G., Die komplexometrische titration, I955, Enke ed., Stuttgart.

I25 - SCHWARZENBACH, G., Relationships between metal complex stability and structure of complexing agents, Anal. Chem., I960, 32, 6.

I26 - SCUDIER, U., Sull' azione antidotica dell'EDTA Na_2 sull'intossicazione sperimentale da cadmio, Med. Lavoro, I955, 46, 559

I27 - SCUDIER, U., TINAZZI, V., Ricerche sull'intossicazione da nichel e suo trattamento con Ca Na_2 EDTA, Med. Lavoro, I956, 47, I6I.

I28 - SEIFRIZ, W., Toxicity and the chemical properties of ions, Science, I949, II0, I93.

I29 - SEVEN, M., GOTTLIEB, H., ISRAEL, H., REINHOLD, J., RUBIN, M., N-hydroxyethylethylenediamine triacetic acid in the treatment of hemochromatosis, Am. J. Med. Sci., I954, 228, 646.

I30 - SHAW, W., Toxicology of cations toward living systems, Science, I954, I20, 36I.

I3I - SHAW, W., Inhibition of urease by various metal ions, J. Am. Chem. Soc., I954, 76, 2I60.

I32 - SHOJI, S., Pharmacological studies on the antidotal action of chelating agents, Folia Pharmacol. Jap., I957, 53, 404.

I33 - SMITH, V., Removal of internally deposited plutonium, Nature, I958, I8I, I792.

I34 - SOMERS, E., The fongitoxicity of metal ions, Ann. Appl. Biol., I96I, 49, 246.

I35 - SOMERS, E., Fongitoxicity of metal ions, Nature, I959, I84, 475.

I36 - SOMERS, E., Fongitoxicity of metal ions, Nature, I960, I87, 427.

I37 - SPENCER, H., GREEBERG,J., BERGER, E., PERRONE, M., LASZLO, D., Studies on the effect of EDTA in hypercalcemia, J. Lab. Clin. Med.,I956, 47, 29.

I38 - SPENCER, H., SAMACHSON, J., LASZLO, D., Effect of ethylenediaminetetraacetic acid on radiostrontium excretion, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., I958, 97, 565.

I39 - STEVENS, A., WHITE, P., HEGSTED, M., FINCH, C., Iron excretion in the mouse, J. Biol. Chem., I953, 203, I6I.

I40 - SVJAKOV, K., BRAUN, H., The treatment of acute selenium, cadmium, and tungstene intoxication in rats with Ca Na_2 EDTA, Toxicol. Appl. Pharmacol., I959, I, 602.

I4I - SYKORA, J., EYBL, V., Der einfluss von Ca Na_2 EDTA auf die experimentelle metallvergiftung, Arch. Intern. Pharmacodynamie, I957, II3, I48.

I42 - SYKORA, J., KOCHER, Z., EYBL, V., Der einfluss von Ca Na_2 EDTA auf die experimentelle metallvergiftung, Arch. Inter. Pharmacodynamie, I958, II5, I58.

I43 - SYKORA, J., KOCHER, Z., EYBL, V., Contribution to the metabolisme of Mn Na_2 EDTA, Arch. Ind. Health, I960, 2I, 24.

I44 - THIEBLOT, L., PERRAULT, M., Les chélateurs en thérapeutique, Journées Médicales de France et de l'Union Française, Caen-Cabourg, I958, ed. de Médecine Pratique, Colombes, Seine.

I45 - THIERS, H., BADINAND, A., COUDERT, J., BOUCHERLE, A., COLOMB, D., FAYOLLE, J., Elimination comparée du thallium chez des sujets soumis ou non à l'action d'un chélateur (EDTA calcique), Ann. Méd. Légale, I958, 38, 26I.

I46 - TREVAN, J., The error of determination of toxicity, Proc. Roy. Soc., I927, IOI, 483.

I47 - ULRICH, J., SHTERNOV, V., The comparative action of solutions of the chlorates and chlorides of potassium, sodium, calcium and magnesium, J. Pharmacol. Exp. Therap., I929, 35, I.

I48 - VALETTE, G., Technique Pharm., I956, 3, I0, d'après Caujolle (20).

I49 - VAN CAMPENHOUT, E., Effets protecteurs du versénate vis-à-vis de l'action des sels de cobalt sur le pancréas endocrine, Compt. Rend. Soc. Biol., I956, I50, I509.

I50 - VAN UITERT, L., FERNELIUS, W., DOUGLAS, B., Studies on coördination compounds, J. Am. Chem. Soc., I953, 75, 2736.

I5I - VAN UITERT, L., FERNETIUS, W., Studies on coördination compounds, J. Am. Chem. Soc., I954, 76, 379.

I52 - VAUGHANAN, J., TUTT, M., Use of ethylenediamine tetraacetic acid for removing fission products from the skeleton, Lancet, I953, 2, 856.

I53 - WARTER, J., WEILL, J., Les agents chélateurs dans l'hémochromatose, Presse Méd., I957, 65, I37I.

I54 - WEAVER, L., GARDIER, R., ROBINSON, V., BUNDE, C., Comparative toxicology of iron compounds, Am. J. Med. Sci., I96I, 24I, 296.

I55 - WESTERBACK, S., MARTELL, A., Ethylenediaminetetra (methylenephosphonic) acid, Nature, I956, I78, 32I.

I56 - WHITE, M., FINKEL, A., SCHUBERT, J., Protection against experimental beryllium poisoning by aurin tricarboxylic acid, J. Pharmacol. Exp. Therap., I95I, I02, 88.

I57 - WINICKI, B., NOFRE, C., CIER, A., Influence de la chélation par l'éthylènediamine tétracétate disodique sur les potentiels normaux d'oxydo-réduction des couples fer (II) et (III), cuivre (I) et (II) et étain (II) et (IV), Bull. Soc. Pharm. Lyon, I959, 3, II6.

I58 - YOSHIKAWA, H., HARA, N., KAWAI, K., Cadmium stearate poisoning, Bull. Natl. Inst. Ind. Health, I960, 3, 6I.

I59 - YOUNG, W., TEBROCK, H., The treatment of exposure to thorium and uranium with a chelating agent, Indust. Med., I958, 27, 229.

I60 - ZIMDAHL, W., HYMAN, I., STAFFORD, W., Effect of drugs upon the copper metabolism in hepatolenticular degeneration, J. Lab. Clin. Med., I954, 43, 774.

TABLE DES MATIERES

Pages

I - G E N E R A L I T E S

INTRODUCTION 1

CHAPITRE I - I : LES IONS METALLIQUES ET LEURS CHELATES 3

I - I - I - STRUCTURE CHIMIQUE ET POUVOIR CHELATEUR, LES FACTEURS INFLUENCANT LA FORMATION DES CHELATES ... 3

I - I - I - I - Structure chimique de l'agent chélateur .. 4
I - I - I - 2 - Nature de l'ion métallique 6
I - I - I - 3 - Nature des groupements donneurs d'électrons 9

I - I - 2 - CHELATION ET TOXICITE 11

CHAPITRE I - 2 - LA CHELATION A L'EDTA 14

II - T R A V A I L P E R S O N N E L

CHAPITRE II - I : REACTIFS ET TECHNIQUES UTILISES 19

II - I - I - REACTIFS 19

II - I - I - I - Les sels métalliques 19
II - I - I - 2 - Les chélates 19
II - I - I - 3 - L'animal 21

II - I - 2 - TECHNIQUES : 21

II - I - 2 - I - L'injection 21
II - I - 2 - 2 - Les critères de la toxicité 22
a - Dose létale 50 p. 100 22
b - Ecart type approché 23
c - DL_{50} au trentième jour 25

CHAPITRE II - 2 : RESULTATS 26

II - 2 - I - VALEURS DES $DL_{50}/30$ 26

II - 2 - 2 - DISTRIBUTION DE LA MORTALITE ET VARIATIONS PONDERALES 26

II - 2 - 2 - I - Distribution de la mortalité 26
II - 2 - 2 - 2 - Variations pondérales 27

CHAPITRE II - 3 : DISCUSSION 51

II - 3 - I - TOXICITE COMPAREE : 51

II - 3 - I - I - Toxicité comparée des ions métalliques . 51
a - Toxicités relatives 51
b - Distribution de la mortalité 52
c - Variations pondérales 52

II - 3 - I - 2 - Toxicité comparée des chélates 53
a - Toxicités relatives 53
b - Distribution de la mortalité 54
c - Variations pondérales 55

Pages

II - 3 - I - 3 - Toxicité comparée des ions et de leur chélate 55
a - Rapport de détoxication 57
b - Distribution de la mortalité 58
c - Variations pondérales 58

II - 3 - 2 - MECANISME DE LA TOXICITE 59

II - 3 - 2 - I - Mécanisme de l'activité toxique des ions 59
a - Le point de vue biologique 59
b - Le point de vue physico-chimique 60

II - 3 - 2 - 2 - Mécanisme de l'activité toxique des chélates 65
a - Cas particulier de l'EDTA sodique 65
b - Dissociation et toxicité 66
c - Etude de quelques cas particuliers 77

CONCLUSIONS 75

BIBLIOGRAPHIE 77